
IMPERIAL MYCOLOGICAL
10 JAN. 1934
INSTITUTE

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

In Gemeinschaft mit

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Appel-Berlin-Dahlem, Prof. Dr. Atanasoff-Sofia, Prof. Dr. Boas-München, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Foex-Paris, Prof. Dr. Gassner-Braunschweig, Prof. Dr. Gäumann-Zürich, Prof. Dr. und Dr. h. c. Klebahn-Hamburg, Regierungsrat Dr. E. Köhler-Berlin-Dahlem, Prof. Dr. Liro-Helsinki, Prof. Dr. Müller-Berlin-Dahlem, Prof. Dr. E. Münch-Tharandt, Prof. Dr. Naumov-Leningrad, Prof. Dr. Petri-Rom, Prof. Dr. Quanjer in Wageningen, Prof. Dr. Stakman-St. Paul, U. S. A., Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Prof. Dr. Westerdijk-Baarn

herausgegeben von

DR. E. SCHAFFNIT

ord. Professor an der Landwirtschaftlichen Hochschule
Bonn-Poppelsdorf

BAND V



Mit 203 Textabbildungen

1933

VERLAG VON PAUL PAREY IN BERLIN

Phytopath. Z. Bd. 5 S. 1—640, Bln. 1933

Inhaltsverzeichnis.

Band V.

Bauch, Die Sexualität von *Ustilago Scorzonerae* und *Ustilago Zeae* 315
Bredemann, G. und Radeloff, H., Rauchschäden durch schwefligsaure Abgase und ihre Erkennung 179
Bredemann, G. und Radeloff, H., Zur Diagnose von Fluor-Rauchschäden . . 195
Carbone, Domenico ed Kalajev, Alessandro, Ricerche sulla vaccinazione delle piante 91
Demmler, F. P., Zur Physiologie von Cladosporium 275
Dufrenoy, J., Die Viruskrankheiten 85
Eglits, Max, Der Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Kohlensäureabgabe bei Kartoffeln 343
Fischer, Robert, Über den Einfluß des jährlichen Witterungsverlaufes auf die Frequenz von Pflanzenkrankheiten 55
Gaßner, G., Neue Wege zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes durch Beizung . 407
Gaßner, G. und Hassebrauk, K., Über die Beeinflussung der Rostanfälligkeit durch Eintauchen geimpfter Blätter in Lösungen von Mineralsalzen und anderen Stoffen 323
Hassebrauk, K., Zur Bewertung der Saugkraft als Merkmal von Braunrostbiotypen 173
Heiling, Alfred, Untersuchungen über den Einfluß gasförmiger Luftverunreinigungen auf die pflanzliche Transpiration nebst einigen Voruntersuchungen zur üblichen Methodik der Transpirationsbestimmungen 435
Köhler, E., Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Kartoffel 567
Kostoff, Dontcho, Virus diseases causing sterility 593
Langner, W., Über die Schüttekrankheit der Kiefernnadel 625
Liesau, Otto Franz, Zur Biologie von *Didymella lycopersici*, dem Erreger der Tomatenkrebskrankheit 1
Minkevicius, Antanas, Untersuchungen über den Einfluß der Narkose auf die Pilzempfänglichkeit der Pflanzen 99
Quanjer, H. M. und Silberschmidt, K., Über eine komplexe Viruskrankheit der Tomate 75
Roemer, Th., und Kamlah, H., Gibt es eine selektive Wirkung der Wirtspflanze (Weizen) auf den Pilz *(Ustilago)?* 41
Rochlin, Emilia, Zur Frage der Widerstandsfähigkeit der Cruciferen gegen die Kohlhernie *(Plasmodiophora brassicae* Wor.) 381
Savulescu, Tr. und Rayss, T., Der Einfluß der äußeren Bedingungen auf die Entwicklung der *Nigrospora Oryzae* (B. und Br.) Petch. 153
Schaffnit, E., *Cercosporella herpotrichoides* (Fron) als Ursache der Halmbruchkrankheit des Getreides 493
Schaffnit, E. und A. Jöhnssen, Beiträge zur Kenntnis der Blattrollkrankheit der Kartoffel 603
Schaffnit, E. und A. F. Wilhelm, Kühlversuche mit verschieden ernährten Pflanzen und Untersuchungen über deren Stoffwechselphysiologie 505
Schätzel, Karl, Beiträge zur Morphologie und Physiologie des bakteriellen Pflanzenkrebserregers 251
Schmalfuß, Karl, Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel von Kalimangelpflanzen 207
Stroede, W., Über den Einfluß von Temperatur und Licht auf die Keimung der Uredosporen von *Puccinia glumarum* f. sp. *tritici* (Schmidt) Erikss. et Henn. 613

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Heft 1.

Zur Biologie von *Didymella lycopersici*, dem Erreger der Tomatenkrebskrankheit. Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Landwirtschaftlichen Hochschule Bonn-Poppelsdorf. Von **Otto Franz Liesau.** (Mit 12 Textabbildungen) 1

Gibt es eine selektive Wirkung der Wirtspflanze (Weizen) auf den Pilz *(Ustilago)?* Von **Th. Roemer** und **H. Kamlah** 41

Über den Einfluß des jährlichen Witterungsverlaufes auf die Frequenz von Pflanzenkrankheiten. Aus dem botanischen Laboratorium der Bundesanstalt für Pflanzenschutz Wien II. Von **Robert Fischer.** (Mit 7 Textabbildungen) 55

Über eine komplexe Viruskrankheit der Tomate. Aus dem „Instituut voor Phytopathologie" Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek. Wageningen, Holland. Von **H. M. Quanjer** und **K. Silberschmidt.** (Mit 5 Textabbildungen) 75

Die Viruskrankheiten. Von **J. Dufrenoy.** (Mit 6 Textabbildungen) 85

Ricerche sulla vaccinazione delle piante. Istituto Sieroterapico Milanese. **Domenico Carbone** ed **Alessandro Kalajev** 91

Heft 2.

Untersuchungen über den Einfluß der Narkose auf die Pilzempfänglichkeit der Pflanzen. Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich. Von **Antanas Minkevicius.** (Mit 14 Textabbildungen.). 99

Der Einfluß der äußeren Bedingungen auf die Entwicklung der *Nigrospora Oryzae* (B. und Br.) Petch. Aus der phytopathologischen Sektion des landwirtschaftlichen Institutes Rumäniens. Von **Tr. Savulescu** und **T. Rayss.** (Mit 6 Textabb.) . . 153

Zur Bewertung der Saugkraft als Merkmal von Braunrostbiotypen. Aus dem Institut für landwirtschaftliche Botanik Braunschweig-Gliesmarode. Von **K. Hassebrauk** . . 173

Rauchschäden durch schwefligsaure Abgase und ihre Erkennung. Aus dem Institut für angewandte Botanik der Universität Hamburg. Von **G. Bredemann** und **H. Radeloff** 179

Zur Diagnose von Fluor-Rauchschäden. Aus dem Institut für angewandte Botanik der Universität Hamburg. Von **G. Bredemann** und **H. Radeloff.** (Mit 1 Textabb.). 195

Heft 3.

Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel von Kalimangelpflanzen. Von **Karl Schmalfuß.** (Mit 3 Textabbildungen.) 207

Beiträge zur Morphologie und Physiologie des bakteriellen Pflanzenkrebserregers. Von **Karl Schätzel.** Aus dem Botanischen Institut der Universität Münster i. W.. . 251

Zur Physiologie von Cladosporium. Von **F. P. Demmler.** Aus dem Botanischen und Pflanzenpathologischen Institut der Technischen Hochschule in München. (Mit 16 Textabbildungen.) 275

Die Sexualität von *Ustilago Scorzonerae* und *Ustilago Zeae.* Von **R. Bauch.** (Mit 4 Textabbildungen.) 315

Seite

Heft 4.

Über die Beeinflussung der Rostanfälligkeit durch Eintauchen geimpfter Blätter in Lösungen von Mineralsalzen und anderen Stoffen. Von **G. Gaßner** und **K. Hassebrauk.** Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik, Gliesmarode - Braunschweig. (Mit 5 Textabbildungen.) 323

Der Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Kohlensäureabgabe bei Kartoffeln. Von **Max Eglits.** Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich. (Mit 34 Textabbildungen.). 343

Zur Frage der Widerstandsfähigkeit der Cruciferen gegen die Kohlhernie *(Plasmodiophora brassicae* Wor.) Von **Emilia Rochlin.** Aus dem Phytopathologischen Laboratorium des Instituts für Pflanzenschutz, Leningrad. (Mit 7 Textabbildungen.) 381

Heft 5.

Neue Wege zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes durch Beizung. Von **G. Gaßner** . 407

Untersuchungen über den Einfluß gasförmiger Luftverunreinigungen auf die pflanzliche Transpiration nebst einigen Voruntersuchungen zur üblichen Methodik der Transpirationsbestimmungen. Von **Alfred Heiling.** Aus dem Botanischen Institut der Universität Münster i. W. (Mit 14 Textabbildungen.). 435

Cercosporella herpotrichoides (Fron) als Ursache der Halmbruchkrankheit des Getreides. Von **E. Schaffnit.** Beiträge zur Kenntnis der Fußkrankheiten des Getreides. (Mit 12 Textabbildungen.) 493

Heft 6.

Kühlversuche mit verschieden ernährten Pflanzen und Untersuchungen über deren Stoffwechselphysiologie. Beiträge zur Kenntnis von Kältewirkungen auf die pflanzliche Zelle. Von **E. Schaffnit** und **A. F. Wilhelm.** (Mit 19 Textabbildungen.) . . . 505

Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Kartoffel. Aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem. Von **E. Köhler.** (Mit 15 Textabbildungen.) 567

Virus diseases causing sterility. Biological Section, Academy of Sciences, Leningrad. By **Dontcho Kostoff.** (With 7 figures.) 593

Beiträge zur Kenntnis der Blattrollkrankheit der Kartoffel. Untersuchungen über Viruskrankheiten. Von **E. Schaffnit** und **A. Jöhnssen.** (Mit 6 Textabbildungen.) . . 603

Über den Einfluß von Temperatur und Licht auf die Keimung der Uredosporen von *Puccinia glumarum* f. sp. *tritici* (Schmidt) Erikss. et Henn. Aus dem Institut für Landwirtsch. Botanik Braunschweig-Gliesmarode. Von **W. Stroede.** (Mit 3 Textabb.) 613

Über die Schüttekrankheit der Kiefernnadel *(Pinus silvestris* und *Pinus strobus).* Aus dem Forstbotanischen Institut der Technischen Hochschule Dresden in Tharandt. Von **Dr. W. Langner.** (Mit 7 Textabbildungen.) 625

Aus dem Institut für Pflanzenkrankheiten der Landwirtschaftlichen Hochschule Bonn-Poppelsdorf.
Direktor: Prof. Dr. Schaffnit.

Zur Biologie von *Didymella lycopersici*, dem Erreger der Tomatenkrebskrankheit.

Von

Otto Franz Liesau.

Mit 12 Textabbildungen.

Inhaltsangabe: Einleitung. — I. Das Krankheitsbild. — II. Das Verhalten des Pilzes in der künstlichen Kultur: Die zur Fruktifikation geeigneten Nährböden. — Die Beeinflussung des Parasiten durch die Temperatur und die Bodenreaktion. — Untersuchungen über die vom Pilz ausgeschiedenen Toxine und Enzyme. — III. Das Verhalten des Pilzes auf der Pflanze: Der Einfluß des Alters der Tomatenpflanzen auf die Infektion. — Die Bedeutung der Umweltfaktoren Ernährung, Temperatur und Bodenreaktion auf die Empfänglichkeit der Tomaten für *Didymella lycopersici*. — Erhaltung, Ausbreitung und Wirtskreis des Parasiten. — Die Empfänglichkeit der verschiedenen Tomatensorten gegenüber *Didymella lycopersici*. — Bekämpfungsversuche: Vorbeugende Spritz- und Stäubeversuche. — Vorbeugende Bekämpfungsversuche unter Verwendung von Natronag-Bodenbelag. — Zusammenfassung der Versuchsergebnisse. — Nutzanwendungen für die Praxis.

Einleitung.

Über den Erreger der Krebskrankheit der Tomaten, den fakultativen Parasiten *Didymella lycopersici*, liegt bereits eine grundlegende systematische Arbeit von Klebahn (8) vor. Es fehlten aber noch eingehende biologische Untersuchungen über das Leben des Pilzes in seiner saprophytischen Lebensphase und über das parasitische Verhältnis zur Wirtspflanze, insbesondere deren verschiedene Entwicklungsstadien. Auch der Einfluß der Ernährung der Wirtspflanze auf den Pilz und eine Reihe sonstiger Umweltfaktoren sind bisher nicht untersucht worden. — Für die Bekämpfung des Parasiten, über die bisher nur wenig Positives vorlag, konnten einige neue Gesichtspunkte gewonnen werden.

Die nachstehende Zusammenstellung (Tabelle 1) gibt einen Überblick über die bei der Literaturdurchsicht festgestellte Verbreitung des Pilzes.

Tabelle I.
Übersicht über das Auftreten des Tomatenkrebses und seine Verbreitung nach Literaturangaben.

Jahr	Gebiet	Gebiet
1909	England	Royal Botanic Gardens, Kew
1915	Rußland	Gouvernements: Konrsk, Orloff, Petrograd
1919	Holland	te Veur, Leeuwarden, Wageningen, Westland
1919	Belgien	Mecheln
1919	Deutschland	Vierlanden bei Hamburg
1922	Deutschland	Freistaat Sachsen: In der Lößnitz
1924	Deutschland	Brandenburg, Schlesien
1925	England	Cheshunt-Hertfordshire
1927	Deutschland	Ruhrgebiet: Gelsenkirchen
1927	Deutschland	Rheinprovinz: Vorgebirge bei Bonn, Karthause bei Koblenz

In der Literatur finden sich keine Angaben über die Herkunft des Pilzes. Da derselbe im Freien auf wildwachsenden Solanaceen gefunden worden ist und sich in späteren Untersuchungen (s. S. 30) eine ganze Reihe von Solanaceen als mehr oder minder stark anfällig erwiesen hat, so ist vielleicht anzunehmen, daß sich der Pilz von den Wildformen auf die Tomate ausgebreitet hat, da er auf ihr günstige Lebensbedingungen fand.

I. Das Krankheitsbild.

a) Makroskopisches Krankheitsbild.

Das Krankheitsbild tritt makroskopisch auf dem Blatte, dem Stengel, der Blüte und der Frucht der Tomatenpflanze in annähernd gleicher Weise in Erscheinung. An der Impfstelle des Blattes bildet sich nach vier bis sechs Tagen ein kleiner, runder bis ovaler, anfangs schwach brauner, später dunkelbrauner nekrotischer Fleck. Dieser bleibt bis auf geringe örtliche Ausbreitung auf die zuerst infizierten Stellen beschränkt und hebt sich scharf vom umgebenden Gewebe ab. Nach dieser Abgrenzung bildet sich eine um die gebräunte Stelle ringförmige, mit fortschreitender Infektion über das ganze Blatt sich ausbreitende Zone vergilbten Gewebes aus. Bei Blattinfektionen kann man drei Zonen unterscheiden: 1. die eigentliche Infektionsstelle; 2. die vom Pilz durchwucherten, der zuerst infizierten Zelle benachbarten Zellen; 3. die die Infektionsstelle kreisförmig umgebende Zone vergilbten Gewebes.

Folgende Aufnahme (Abb. 1) zeigt verschieden weit fortgeschrittene Blattinfektionen. Während bei dem kleineren Blatte links die vergilbte Zone um die Infektionsstelle noch nicht in Erscheinung tritt, ist sie bei allen anderen Blättern gut zu erkennen. Bei der Infektion eines Interkostalfeldes breitet sich die Infektionsstelle nur wenig aus und grenzt sich bald von dem umgebenden Gewebe ab, wie es die beiden auf dem Bilde links befindlichen Blätter zeigen, im Gegensatz zu den Infektions-

stellen der Haupt- und Seitennerven der beiden auf dem Bilde rechts befindlichen Blätter. Mit der Abgrenzung der Infektionsstellen bilden sich in dem dunkelbraunen Gewebe, mehr oder weniger zahlreich, Pycniden, die als sehr kleine, schwarze Pünktchen in ringförmiger Anordnung oder zerstreut erkennbar sind.



Abb. 1.
Blattinfektionen von *Didymella lycopersici* auf *Solanum lycopersicum.*

Als erstes Anzeichen einer Stengelinfektion tritt bei genügend hoher Luftfeuchtigkeit an der Impfstelle ein kleines Tröpfchen in Erscheinung. Die später zu beobachtende Bräunung der um die Eintrittsstelle gelegenen Zellen breitet sich im Gegensatz zu den Infektionen der Blätter weiter aus, ergreift größere Gewebepartien und umfaßt sogar in seltenen Fällen den Stengel in geringer Höhe. Sie ist aber auch hier scharf vom umgebenden Gewebe abgesetzt, wie folgende Aufnahme (Abb. 2) zeigt.

Bei einer Infektion der Blüte schrumpfen die Blütenblätter, falls der Befall frühzeitig erfolgt, unter Dunkelbraunfärbung vollständig ein. Stark empfänglich wie die Blütenblätter sind in gleicher Weise der Kelch und der Blütenstiel. Gelegentlich wird der Fruchtansatz durch vorzeitige Zerstörung der Blüte unterbunden. Auch an Blütenteilen kann Ausbildung von Pycniden vorkommen. — Die Infektion der Früchte äußert sich in etwas anderer Weise. Das infizierte Gewebe ist intensiv dunkel gefärbt und von einem durch Einsinken des Gewebes verursachten wulstförmigen Rand von heller bis schmutzigbrauner Farbe umgeben. Mit fortschreitender Ausbreitung des Pilzes wird die Frucht durch die starke Wasserverdunstung

des Gewebes mumifiziert und trocknet schließlich zu einer braunen, trocknen Masse ein. Diese Art der Fruchtfäule bezeichnen wir als Didymella-Trockenfäule.



Abb. 2.
Stengelinfektion von *Didymella lycopersici* auf *Solanum lycopersicum.*

Die folgende Aufnahme (Abb. 3) zeigt verschiedene Infektionsstadien.

Systematische Infektionsversuche in verschiedenen Entwicklungsstadien ergaben, daß die Frucht mit zunehmendem Alter resistenter wird. Das hat seinen Grund darin, daß sich die Epidermis im Verlaufe des Reifens der Frucht immer mehr verdickt und so den eindringenden Sporenkeimschläuchen einen größeren Widerstand bietet. In ähnlicher Weise erklären Rosenbaum und Sando (15) die mit dem Alter zunehmende Resistenz der Tomatenfrüchte gegenüber *Macrosporium tomato.* Im Freilande sind es in der Regel durch Wasserüberschuß auftretende Risse in der Frucht, die dem Pilz das Eindringen ermöglichen und den Grund zur Fäule geben. Außerdem ist noch eine besondere Art der Infektion zu erwähnen, durch die häufig ein großer

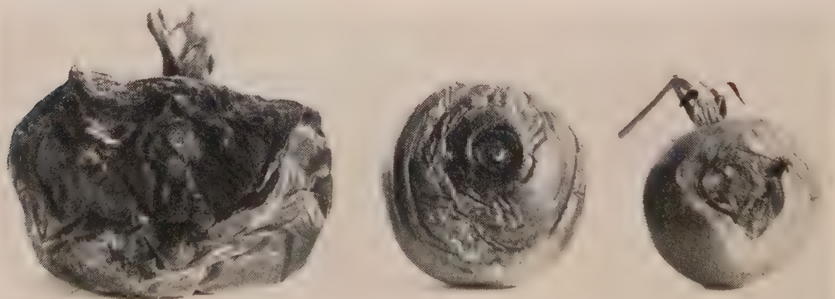


Abb. 3.
Fruchtinfektionen von *Didymella lycopersici* auf *Solanum lycopersicum.*

Teil der Früchte verwendungsunfähig wird. Der Parasit dringt hierbei in den Fruchtstiel unmittelbar an der Ansatzstelle der Frucht ein, zerstört das Gewebe und verursacht dadurch das Abfallen der Tomaten. Bei den

auf dem Boden liegenden Früchten findet man gerade an der Ansatzstelle die typischen Infektionsstellen in Form kleiner schwarzer Pünktchen. Ein Nachreifen dieser Früchte ist unmöglich, da sich der Pilz in der Regel schnell weiter verbreitet und die ganze Frucht zerstört. Die Ursache dafür, daß der Pilz gerade an der Ansatzstelle des Fruchtstieles eindringt, hat seinen Grund wahrscheinlich in der Bauart der meisten Tomatenfrüchte. Bei vielen Sorten befindet sich an der Ansatzstelle der Frucht an dem Fruchtstiel eine kleine Vertiefung, in der sich Niederschläge sammeln, die durch die Kelchblätter noch vor der Verdunstung geschützt werden. Anfliegende Sporen finden hier die günstigsten Keimungsbedingungen.

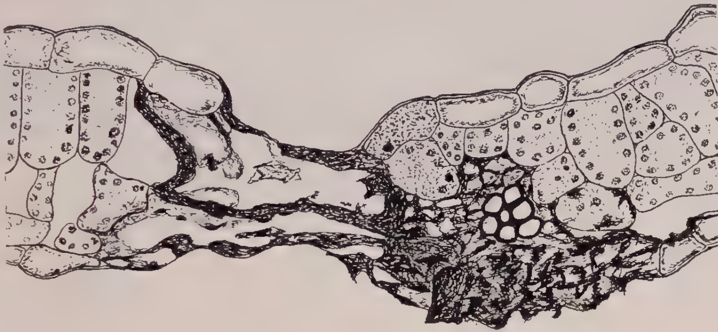


Abb. 4.
Schnitt durch die Infektionsstelle eines Tomatenblattes.

Die durch Didymella verursachte Fruchtfäule, der in dem Gemüseanbaugebiet des Vorgebirges bei Bonn in den Jahren 1930 und 31 vielfach bis zu 25 % der Tomaten zum Opfer fielen, entspricht in ihrem makroskopischen Bild ganz der von Jamieson (24) und Brick (25) beschriebenen Fäule, die durch *Phoma destructiva* verursacht wird. In den Didymellapycniden, die auf den Früchten gebildet werden, befinden sich neben den typischen zweizelligen Didymellasporen stets ein sehr großer Prozentsatz einzelliger Sporen. Wenn Petrak (26) beobachtete, daß die Pycnosporen von *Phoma destructiva* im Alter zweizellig wurden, und deshalb auch den Erreger zu Diplodina *(Diplodina destructiva)* stellt, so kann es sich bei seinem Material vielleicht auch um Infektionen durch *Diplodina lycopersici* gehandelt haben. Jedenfalls wird man in Zukunft mehr darauf achten müssen, ob die Schwarzfäule der Tomaten, die ein vorzeitiges Abfallen der Früchte bedingt, durch *Phoma destructiva* oder durch die als Fruchtschädiger bisher weniger beachtete *Didymella lycopersici* verursacht ist.

b) Mikroskopisches Krankheitsbild.

Zur mikroskopischen Untersuchung des Eindringens des Pilzes in die Wirtspflanze, seiner Ausbreitung in dem Gewebe und des von ihm hervorgebrachten Krankheitsbildes wurden teils Handschnitte verwendet, teils

diente eingebettetes Material zur Untersuchung (Fixierung mit Flemmingscher Lösung, Färbung mit Safranin und Orange G. B.). Die Untersuchung erstreckte sich auf die gesunden Teile und auf die durch die Infektion bedingte histologische Veränderung der Gewebe.

Der Parasit benutzt als Eingangspforte in die Pflanze entweder Spaltöffnungen und Wunden, oder er perforiert unmittelbar die Epidermiszellen. Mit der radialen und tangentialen Ausbreitung seiner Hyphen tritt eine mit der Zeit zunehmende Zerstörung des Gewebes ein.

Bei Blättern schrumpft das Palisaden- und Schwammparenchym sehr stark, während die Epidermis weit besser erhalten bleibt. Das kranke Gewebe grenzt unmittelbar an das gesunde an, da die Tomatenpflanze nicht imstande ist, der weiteren Ausbreitung des Pilzes ein Hindernis in Form eines Abschlußgewebes entgegenzustellen, wie es in anderen Fällen nachgewiesen wurde und auf die verschiedensten Arten möglich ist.

Besondere Beachtung wurde der Perforation der Zellwand durch den Parasiten zugewandt. Davon wird später noch die Rede sein; hier mag aber schon vorausgeschickt werden, daß der Pilz in hohem Maße die Fähigkeit besitzt, pektinhaltige Körper aufzuspalten. Das starke Auflösungsvermögen und die Zerstörungskraft des Pilzes zeigt folgende Mikrosummar - Aufnahme (Abb. 5) eines Querschnittes durch eine zwei Monate alte, von *Didymella lycopersici* befallene Tomatenpflanze (Sorte Reine d'or). Die Infektionsstelle ist stark eingesunken und verfärbt. Neben Zerstörung des wenig widerstandsfähigen Parenchymgewebes ist auch das Festigungsgewebe stark angegriffen, zum Teil sogar vollständig aufgelöst und zerstört.

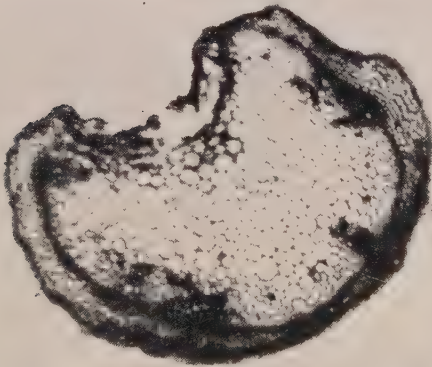


Abb. 5.
Schnitt durch die Infektionsstelle eines Tomatenstengels.

Außer den zellwandauflösenden Enzymen scheidet der Pilz noch ein die Pflanzenzelle abtötendes Toxin ab, welches später eingehend besprochen wird. Das Toxin führt eine Vergiftung herbei, die schließlich zum Tod der befallenen Zelle führt. Der Zellinhalt kollabiert, die abgestorbenen Zellen schrumpfen und bewirken eine Zusammenschnürung des Stengels an der Befallsstelle. In dem Maße, wie Vergiftung der Zellen und der Leitungsbahnen eintritt und fortschreitet, wird auch das Festigungsgewebe durch die enzymatische Tätigkeit des Pilzes aufgelöst und zerstört, so daß dem durch das Toxin verursachten Welken der Pflanze bald deren Umbrechen folgt.

Tabelle 2.
Mikrochemisches Verhalten von Schnitten durch gesunde und mit *Didymella lycopersici* infizierte Tomatenstengel gegen verschiedene Reagenzien.

Reagens	Schnitte durch	
	Gesunde Stengel	Infizierte Stengel
Chlorzinkjod	Verholzte Elemente gelbbraun, unverholzte Elemente violett gefärbt	Sämtliche Gewebeelemente an der Infektionsstelle tief dunkelbraun gefärbt
Phloroglucin-salzsäure	Verholzte Elemente kirschrot gefärbt	Verholzte Elemente an der Infektionsstelle je nach dem Zerstörungsgrad mattrot bis normal braun gefärbt
Rutheniumrot	Wände sämtlicher Gewebezellen mehr oder minder stark rot gefärbt	Wände der vom Pilz angegriffenen Zellen je nach dem Zerstörungsgrad mattrot bis normal braun gefärbt

Die Umwandlung der Zellwandsubstanzen durch Pilzinfektion in chemischer Hinsicht tritt bei Zusatz von Reagenzien klar in Erscheinuug. Als solche dienten Chlorzinkjodlösung und Rutheniumrot (Verdünnung 1 : 5000).

Die Tabelle 2 zeigt das Verhalten von gesundem und krankem Tomatengewebe gegenüber diesen Reagenzien.

Das unterschiedliche Verhalten des Parenchymgewebes von gesunden und kranken Pflanzen gegenüber Chlorzinkjod ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß durch Auflösung des Pektins der Mittellamelle die hemizellulosehaltigen Zellwände isoliert worden sind und daher eine stärkere Reaktion verursachen. In gleicher Weise muß auch das Lignin eine Umwandlung erfahren haben, denn während die Phloroglucinreaktion im gesunden Gewebe in den verholzten Teilen positiv ausfällt, kann man mit dem Fortschreiten der Infektion ein allmähliches Verschwinden dieser Reaktion feststellen. Durch den negativen Ausfall der Ligninreaktion braucht bei den vollkommen zerstörten Zellen noch nicht als erwiesen zu gelten, daß diese Substanz dem Pilz als Nahrung gedient hätte und vollkommen verschwunden wäre. Da die Phloroglucinsalzsäure nur ein Gruppenreagens darstellt, so ist es sehr gut möglich, daß nach Veränderung gewisser chemischer Gruppen (vielleicht Aldehyden) diese Reaktion ausbleibt, ohne daß dadurch die Substanz insgesamt aus der Zellwand entfernt wurde. Die positive Reaktion von Rutheniumrot bei gesunden Pflanzen und die mehr oder minder negative Reaktion im befallenen Gewebe zeigt die Herauslösung des Pektins aus den Zellwänden vom Pilz befallener Zellen.

II. Das Verhalten des Pilzes in der künstlichen Kultur.

Die zur Fruktifikation geeigneten Nährböden.

Von besonderer Wichtigkeit war die Ermittlung einer Nährbodenzusammensetzung, die in ausgiebigem Maße zur Fruktifikation führte, da

reichlich Sporenmaterial zu Infektionsversuchen immer zur Hand sein mußte. Die zur Kultur verwendeten Nährböden und das Verhalten des Pilzes auf denselben gibt die folgende Zusammenstellung (Tabelle 3) an.

Tabelle 3.

Wachstum des Myzels von *Didymella lycopersici* auf verschiedenen Nährböden.

Temperatur + 20° C.

Nährboden	Myzelwachstum	Fruktifikationsverhältnisse nach 17 Tagen
Salepagar	mäßig	keine Fruktifikation
Hafermehlagar	gut	starke Fruktifikation
Kirschagar	sehr gut	starke Fruktifikation
Gerste-Haferschrot	sehr gut	sehr starke Fruktifikation

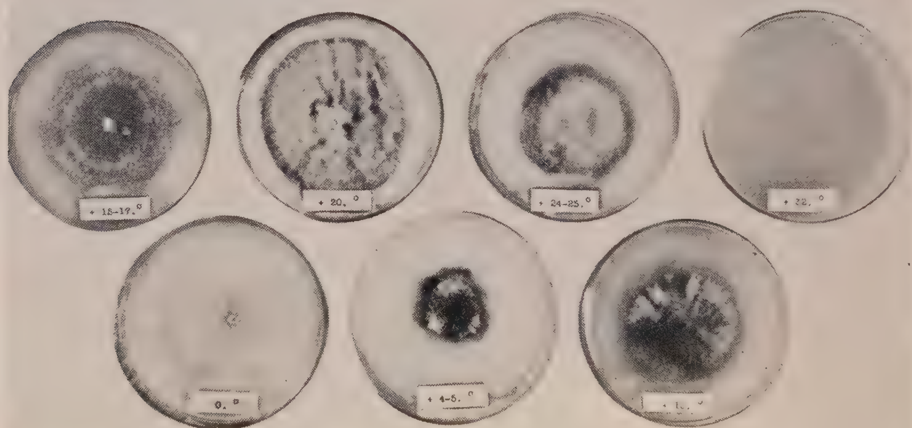


Abb. 6.
Myzelwachstum von *Didymella lycopersici* bei verschiedenen Temperaturen.

Da sich der Pilz, wie Tabelle 3 zeigt, besonders gut auf Hafermehlagar, Kirschagar und Gerste-Haferschrot entwickelte, wurde er wechselweise nur auf diesen Nährböden kultiviert.

Die Beeinflussung des Parasiten durch die Temperatur.

Der Einfluß mittlerer Temperaturen auf die Entwicklung des Myzels und die Keimung der Sporen.

Zur genauen Festlegung der Infektionsbedingungen und des Infektionsverlaufes war es notwendig, die Kardinalpunkte des Myzelwachstums und der Sporenkeimung zu bestimmen. Um das Myzelwachstum zu untersuchen, wurden Myzelflöckchen einer Reinkultur des Pilzes auf in Petrischalen steril eingefüllten Hafermehlagar übertragen und bei 0°, + 4° bis

+5°, + 10°, + 15° bis +17°, + 20°, + 24° bis + 25°, + 32° aufgestellt. Während bei 0° kein Wachstum stattfindet, nimmt die bereits wenige Grad über 0° einsetzende Ausbreitung des Myzels mit steigender Temperatur zu und erreicht bei + 20° ihr Optimum, um dann wieder langsam abzusinken. Bei + 32° stellt der Pilz sein Wachstum ganz ein. Abb. 6 zeigt das Myzelwachstum bei den verschiedenen Temperaturen.

Weiter wurden nun die Temperaturkardinalpunkte für die Keimung der Pycnosporen festgestellt. Die Keimung wurde in kleinen, feuchten Kammern im Hängetropfen von destilliertem Wasser beobachtet. Die nachfolgende Zusammenstellung (Tabelle 4) gibt die notierten Werte wieder.

Die Tabelle 4 und die Abb. 6 zeigen, daß die Sporenkeimung, wie die Myzelentwicklung, erst bei + 4 bis 5° einsetzt, um von hier stark anzusteigen. Das Keimungsoptimum liegt zwischen + 20 und + 24° und somit etwas höher als das Optimum für die Myzelausbreitung. Mit der Einstellung des Myzelwachstums bei + 32° bleibt auch die Sporenkeimung aus.

Tabelle 4.

Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Pycnosporen.

Versuchs-temperatur	Untersuchungsergebnis nach		
	8 Stunden	24 Stunden	49 Stunden
0° C	keine Keimung	keine Keimung	keine Keimung
+ 4—5° C	keine Keimung	keine Keimung	vereinzelte Sporenkeimung
+ 8—10° C	beginnende Keimung	30% Sporen gekeimt	90% Sporen gekeimt
+ 15° C	beginnende Keimung	70% Sporen gekeimt	90% Sporen gekeimt
+ 20—22° C	beginnende Keimung	90% Sporen gekeimt	90% Sporen gekeimt
+ 24° C	beginnende Keimung	90% Sporen gekeimt	90% Sporen gekeimt
+ 32° C	keine Keimung	keine Keimung	keine Keimung

Einfluß extrem tiefer Temperaturen auf die Lebensfähigkeit von Myzel und Sporen.

Zur Prüfung der wichtigen Frage der Überwinterung des Pilzes wurden drei Röhrchen einer auf Hafermehlagar gezogenen Reinkultur des Pilzes mit starker Luftmyzelentwicklung und drei von dem Parasiten infizierte und unter natürlichen Verhältnissen abgestorbene Tomatenstengel, die reichlich mit volldifferenzierten Pycniden besetzt waren, in den Tiefkühlschrank bei — 6,5° gebracht. Von den gekühlten Kulturen wurde zum ersten Male nach drei Stunden Myzel abgeimpft. Weiteren Abkühlungsversuchen wurde eine Temperatur von — 10° bei 24stündiger Einwirkung und eine Temperatur von — 15° bei vierzehntägiger Einwirkung zugrunde gelegt. Da die Prüfung der gekühlten Kulturen durch Übertragung auf frische Nährböden noch volle Lebensfähigkeit ergab, wurden die Kulturen weitere vierzehn Tage einer Temperatur von — 15,6° ausgesetzt. Gegen Ende

des Versuches betrug die Temperatur an einem Tage — 20 °, um am nächstfolgenden Tage auf — 23 ° zu sinken. Trotz dieser langen Kälteeinwirkungen von, wenn auch nur kurz anhaltenden, extrem tiefen Temperaturen war keine Schädigung des Myzels wahrzunehmen. Die den gleichen Temperaturen ausgesetzten Pycnosporen wurden in Nährlösung übertragen. Sie erwiesen sich als voll entwicklungsfähig und zeigten keinerlei Anzeichen einer Schädigung.

Aus diesem Versuch ergibt sich, daß das Myzel und die Pycnosporen im Gewebe des Wirtes außerordentlich widerstandsfähig gegen tiefe Temperaturen sind. Die Erhaltung des Parasiten in seiner saprophytischen Lebensphase in sowohl auf der Oberfläche als auch im Boden überwinternden Pflanzenteilen ist selbst bei extrem tiefen Temperaturen möglich.

Einfluß extrem hoher Temperaturen auf die Lebensfähigkeit von Myzel und Sporen.

Die Versuchsanstellung war derart, daß mit vollentwickelten Pycniden besetzte Tomatenstengelteile in Uhrschälchen im Thermostaten einer konstanten Temperatur von 60°—61° C verschieden lange Zeit ausgesetzt wurden. Die Lebensfähigkeit der Sporen wurde sowohl in trocknem Zustande wie in destilliertem Wasser untersucht; das letztere geschah deshalb, weil man vielleicht feuchte Wärme zur Bekämpfung des Parasiten in seiner saprophytischen Lebensphase im Boden durch dessen Dämpfung ins Auge fassen könnte.

Tabelle 5.

Einwirkung hoher Temperaturen (60—61° C) auf a) Sporen, b) Myzel.

a

Sporen trocken erhitzt		Sporen feucht erhitzt	
Einwirkungsdauer	Ergebnis nach 48 Stunden	Einwirkungs. dauer	Ergebnis nach 48 Stunden
25 Minuten	Normale Keimung	25 Minuten	Nur vereinzelt Keimung
45 Minuten	Anzeichen schwacher Schädigung	35 Minuten	Keine Keimung
60 Minuten	Nur noch vereinzelt Keim.	45 Minuten	Keine Keimung
1 Std. 15 Minuten	Nur noch vereinzelt Keim.	55 Minuten	Keine Keimung

b

Einwirkungsdauer	Prüfung auf Lebensfähigkeit nach 8 Tagen
25 Minuten	Myzel noch entwicklungsfähig
45 Minuten	Myzel nicht mehr entwicklungsfähig
60 Minuten	Myzel nicht mehr entwicklungsfähig
1 Std. 30 Minuten	Myzel nicht mehr entwicklungsfähig

Zur Prüfung der Wärmewiderstandsfähigkeit des Myzels erfolgte zu gleicher Zeit Einstellung von zwei auf Kirschagar gezogenen Reinkulturen des Pilzes mit starker Luftmyzelentwicklung, von denen nach den in der folgenden Tabelle 5 angegebenen Zeiten mit einer Platinnadel Myzelflöckchen abgenommen und auf frische Nährböden übertragen wurden.

Wie aus der Zusammenstellung (Tabelle 5) zu ersehen ist, sind Sporen gegen trockne Hitze weniger empfindlich als gegen feuchte. Myzel zeigt hohen Temperaturen gegenüber nur geringe Widerstandsfähigkeit.

Prüfung des saprophytischen Wachstums von *Didymella lycopersici* auf Böden von verschiedener Azidität.

Die Versuche in dieser Richtung wurden nach der von Schaffnit und Meyer-Hermann ausgearbeiteten Versuchsmethode ausgeführt (17). Zur Untersuchung des saprophytischen Wachstums von *Didymella lycopersici* wurden Erlenmeyerkolben von 250 ccm Inhalt mit 100 g feingesiebtem humosen Boden beschickt, von einem pH-Wert von 3,9, einer hydrolytischen Azidität von 54,7 ccm und einer Austauschazidität von 7,67 ccm n/10 NaOH. Die dem Boden zugegebenen Mengen $CaCO_3$ und CaO und die damit erreichten pH-Werte gibt die Tabelle 6 an.

Tabelle 6.

Reihe	pH	Menge pro 100 g Boden	
		$CaCO_3$	CaO
I (a—d) natürlich sauer . .	3,90	—	—
II (a—d)	5,23	0,13	—
III (a—d)	6,95	0,82	—
IV (a—d)	7,60	2,46	0,15
V (a—d)	8,10	2,46	3,00

Der mit Kalk gemischte und angefeuchtete Boden wurde in Kolben im Autoclaven eine halbe Stunde bei zwei Atmosphären Druck sterilisiert. Die Beimpfung erfolgte mit Myzelflöckchen einer Reinkultur unter Zuhilfenahme eines kleinen Kartoffelstückchens als Ammennahrung. Die Zusammenstellung (Tabelle 7) gibt die erhaltenen Versuchswerte wieder.

Tabelle 7.
Saprophytisches Wachstum von *Didymella lycopersici* auf verschieden saurem Boden.

Reihe	Oberflächenwachstum nach			Tiefenwachstum nach 26 Tagen cm
	7 Tagen cm	15 Tagen cm	21 Tagen cm	
I (a—d)	0,3	0,4	0,8	(ca) 0,2
II (a—d)	2,1	3,7	6,6	2,7
III (a—d)	1,9	3,5	6,3	2,6
IV (a - d)	1,8	3,3	5,5	2,5
V (a—d)	1,6	3,0	5,0	2,0

Die *Didymella lycopersici* wächst auf Boden mit feinem, lockerem, weißem Luftmyzel, welches sich von der Impfstelle, auf der es etwas dichter erscheint, gleichmäßig nach allen Seiten hin ausbreitet. Optimales Wachstum zeigt der Pilz nach den gewonnenen Versuchsdaten auf schwach saurem Boden (pH 5,23); doch vermag er auch auf Substraten mit deutlich alkalischer Reaktion (pH 8,10) zu wachsen.

Sporenkeimungsversuch in Bodenauszügen.

Zur Prüfung der Abhängigkeit der Sporenkeimung von der Substratreaktion erfolgte Aussaat von Pycnosporen in Bodenauszügen von zuvor elektrometrisch bestimmten, in der Tabelle 8 wiedergegebenen pH-Werten in der Weise, daß ein in eine feuchte Kammer übertragener Tropfen des Bodenauszuges mittels der Platinnadel beimpft wurde.

Tabelle 8.
Sporenkeimung in Bodenauszügen.

pH	Ergebnis nach 24 Stunden
4,36	Keimung
5,06	Keimung
6,85	Keimung
7,49	Keimung
8,29	keine Keimung

Vorstehende Zusammenstellung zeigt, daß Sporenkeimung in Bodenauszügen von pH 4,36 bis pH 7,49 stattfand, während sie bei stärkerer alkalischer Reaktion unterblieb.

Untersuchungen über die vom Pilz ausgeschiedenen Toxine und Enzyme.

Um einen genauen Einblick in das wechselseitige Verhältnis zwischen Parasit und Wirtspflanze, insbesondere in die Folgeerscheinungen der Infektion zu gewinnen, war es notwendig, die beim Stoffwechsel des Parasiten gebildeten Ausscheidungsprodukte zu untersuchen.

Eine dieser Folgeerscheinungen der Infektion war das verhältnismäßig rasche Welken der Versuchspflanze, das nicht etwa durch eine Zerstörung der Leitbahnen bedingt war, sondern unabhängig von einer solchen schon zu einem viel früheren Zeitpunkt eintrat. Da diese Erscheinung offensichtlich dem Verlauf derjenigen Erkrankungen parallel ging, die von den typischen Erregern der Welkekrankheiten (Fusariosen, Verticilliosen) verschiedener Kulturpflanzen hervorgerufen werden, war es von Interesse zu wissen, in welcher Weise der Pilz an dem Zustandekommen dieser Erkrankungsform beteiligt war. Die in der Literatur häufig gegebene Erklärung für die durch pilzliche Parasiten hervorgerufenen Welkeerscheinungen fußt auf der Annahme, daß durch Zerstörung des Wurzelapparates (Orton 13) oder durch eine Verstopfung der Leitbahnen der

Pflanze durch Pilzmyzel (Stewart 22, Smith 21) die Versorgung der Pflanze mit Wasser unterbunden wird. Dieser Richtung, die das Welken auf rein mechanische Ursachen zurückführt, steht die von Hutchinson (7) u. a. vertretene Richtung gegenüber. Hutchinson ist der Ansicht, daß nicht die rein mechanische Behinderung der physiologischen Funktionen in der Pflanze das Welken veranlaßt, sondern daß eine Beeinflussung durch giftig wirkende Stoffwechselprodukte der in Betracht kommenden pathogenen Mikroorganismen vorliegt. Die folgenden Untersuchungen liefern eine Bestätigung dafür, daß die von Hutchinson aufgestellte Theorie durchaus zu Recht besteht. Die Versuchsanstellung gliedert sich in folgende Unterabschnitte:

1. Gewinnung der Toxine;
2. Nachweis der Giftigkeit derselben;
3. Reaktionsänderung des Substrates;
4. Sonstige Veränderungen der Nährlösung.

1. Gewinnung der Toxine.

Zur Prüfung der Ausscheidungsprodukte von *Didymella lycopersici* auf das etwaige Vorkommen von Toxinen wurde die zu ähnlichen Versuchen (14) schon mehrfach benutzte Richardsche Nährlösung verwendet. Erlenmeyerkolben von 250 ccm Inhalt wurden mit 100 ccm Nährlösung beschickt, die auf 1000 ccm Wasser noch einen Zusatz von 50 gr Dextrose erhielt. Nach einer halbstündigen Sterilisation im Autoclaven bei $1^1/_2$ Atmosphären wurde die Nährlösung steril mit Myzelflöckchen einer auf Kirschagar gezogenen Reinkultur des Pilzes beimpft. Die Versuchstemperatur betrug + 20 bis 22° C. Vor dem Ansetzen eines jeden Versuches wurde der Inhalt einiger Kolben auf einen mit doppeltem Filter (Schleicher & Schüll Nr. 597) versehenen Trichter gebracht und der abgelaufene wässerige Auszug, der die Ausscheidungsprodukte des Pilzes enthielt, weiter verwertet.

2. Nachweis der Giftigkeit der Ausscheidungsprodukte für Tomaten.

Um die Giftigkeit der Ausscheidungsprodukte des Pilzes zu prüfen, wurden mit dem goldgelben Filtrat einer 23 Tage alten Kultur, — die zur Kontrolle dienende unbeimpfte Nährlösung blieb ungefärbt, — 5 Reagenzgläser gefüllt, in die je eine unterhalb des 5. Knotens unter Wasser abgeschnittene Triebspitze einer $1^1/_2$ Monate alten, kräftig entwickelten und steril herangezogenen Tomatenpflanze (Sorte Lukullus) eingestellt wurde. Zur Kontrolle dienten 5 Pflanzen in unbeimpfter Nährlösung und in destilliertem Wasser.

Nach 5 Stunden zeigten die in dem Filtrat befindlichen Pflanzen schwache Anzeichen von Welken, welches in einem Einrollen der Blätter und in einer allgemeinen Erschlaffung in Erscheinung trat. Klarer traten

Tabelle 9.

Das Verhalten von Tomatentriebspitzen in den toxinhaltigen Filtraten der bei verschiedenen Temperaturen gezogenen Kulturen von *Didymella lycopersici* bzw. in unbeimpfter Nährlösung und destilliertem Wasser.

	Versuchs-tempe-ratur °C		A		B	
			5 Stunden a	17 Stunden b	5 Stunden c	17 Stunden d
Toxisches Filtrat	15—17	1	Triebe unverändert	Welken der Triebe. Stengel aufrecht. Blattspreiten schlaff	wie 1 b	Fortschreitendes Welken. Stengel nur teils noch aufrecht
Kontrolle: unbeimpfte Nährlösung		2	Triebe unverändert	Triebe nicht vollturgeszent	wie 2 a	wie 2 b
Kontrolle: destill. Wasser		3	Triebe unverändert	Triebe unverändert	wie 3 a	wie 3 b
Toxisches Filtrat	19—21	4	Schwache Anzeichen von Welken. Beginnendes Einrollen der Blätter	Fortschreitendes Welken. Stengel aufrecht. Blätter welk	Starkes Welken. Stengel hängen schlaff nach unten	Triebe vollkommen welk
Kontrolle: unbeimpfte Nährlösung		5	wie 2 a	wie 2 b	wie 2 a	wie 2 b
Kontrolle: destill. Wasser		6	wie 3 a	wie 3 b	wie 3 a	wie 3 b
Toxisches Filtrat	24—26	7	wie 4 a	Fortschreitendes Welken. Erschlaffung etwas schwächer als 4 b	Starkes Welken. Stengel aufrecht	wie 1 d
Kontrolle: unbeimpfte Nährlösung		8	wie 2 a	wie 2 b	wie 2 a	wie 2 b
Kontrolle: destill. Wasser		9	wie 3 a	wie 3 b	wie 3 a	wie 3 b
Toxisches Filtrat	28	10	wie 1 a	wie 2 b	wie 1 a	wie 2 b
Kontrolle: unbeimpfte Nährlösung		11	wie 2 a	wie 2 b	wie 2 a	wie 2 b
Kontrolle: destill. Wasser		12	wie 3 a	wie 3 b	wie 3 a	wie 3 b

die Unterschiede zwischen den im Filtrat befindlichen Pflanzen und den Kontrollen nach 20 Stunden hervor. Wenn auch nach dieser Zeit die zur Kontrolle in der unbeimpften Nährlösung befindlichen Pflanzen nicht mehr das frische Aussehen der in Wasser stehenden Pflanzen zeigten, so ergab sich doch eindeutig, daß eine für die Pflanze ungünstige Veränderung der Nährlösung, die zur Pilzkultur gedient hatte, stattgefunden haben mußte. Welcher Art diese für die Wirtspflanze schädliche Veränderung des Pilzsubstrates ist, welcher Giftstoff von dem Pilz gebildet wird, soll später erörtert werden. Zunächst sei hier noch einiges ausgeführt über die Wechselbeziehungen zwischen Temperatur und Toxidität der Ausscheidungsprodukte und die Menge des ausgeschiedenen Toxins in Abhängigkeit von der Wachstumszeit des Pilzes. Der Pilz wurde wie bei dem vorigen Versuch kultiviert. Die Kolben fanden Aufstellung bei folgenden konstanten Temperaturen:

1. + 15 bis 17°; 2. + 19 bis 21°;
3. + 24 bis 26°; 4. + 28° C.

Nach 23 bzw. nach 52 Tagen wurden die in den verschiedenen Temperaturstufen herangezogenen Pilzkulturen filtriert und in das Filtrat je 5 Tomatentriebspitzen eingestellt. Die erste Untersuchung der Pflanzen erfolgte nach 5 Stunden, die zweite nach 17 Stunden. Tabelle 9 gibt die Versuchswerte wieder. In derselben bedeuten die Buchstaben A und B, daß die Prüfung jeweils in unbeimpfter Nährlösung, destilliertem Wasser und in den toxinhaltigen Filtraten 23 bzw. 52 Tage alter Kulturen von *Didymella lycopersici* durchgeführt wurde.

Die Tabelle zeigt, daß eine enge Beziehung zwischen der Temperatur, bei der der Pilz kultiviert wurde, und der Toxidität der Ausscheidungsprodukte besteht. Bei optimalem Wachstum des Pilzes ist die Menge der gebildeten Giftstoffe am größten. Der Entwicklungshemmung des Parasiten bei niedrigeren oder höheren Wärmegraden geht eine geringere Toxidität der Ausscheidungsprodukte parallel. Der Versuch zeigt weiter, daß die gebildete Toxinmenge neben der Temperatur weitgehend von der Versuchsdauer abhängig ist, denn die Tomatentriebspitzen welkten in den Filtraten älterer Kulturen wesentlich schneller als in Filtraten jüngerer Kulturen.

3. Reaktionsänderung des Substrates unter dem Einfluß des Pilzwachstums.

Gleichzeitig mit der Toxinbildung geht eine Reaktionsänderung des Substrates unter dem Einfluß des Pilzwachstums vor sich. Schon eine oberflächliche Prüfung der Filtrate mit Lackmuspapier weist darauf hin. Genauer wurde diese bestimmt durch Messung der pH-Werte der Filtrate der bei verschiedenen Temperaturen gezogenen Kulturen mittels der

Chinhydronmethode. — Die Zahlenwerte der Zusammenstellung (Tabelle 10) und die Kurven der graphischen Darstellung (Abb. 7) zeigen, daß eine starke Reaktionsänderung der zur Kultur verwendeten Nährlösung stattgefunden hat. Sie geht der Wachstumsintensität des Parasiten bei den betreffenden Versuchstemperaturen parallel.

Die in gleicher Weise von der Dauer des Versuchs abhängige Reaktionsänderung nimmt aber, wie der Knick der Kurven nach 23 Tagen zeigt, nicht konstant zu. Dies hat wahrscheinlich seine Ursache darin, daß der Parasit schon einen großen Teil der zu seinem Aufbau notwendigen Nahrungsstoffe aufgebraucht hat oder durch die starke Anhäufung seiner Stoffwechselprodukte eine Wachstumshemmuug erfährt. Mit der Einstellung seiner Entwicklung bei + 28° C ist auch keine Veränderung der Reaktion des Substrates mehr zu beobachten.

Tabelle 10.
Reaktionsänderung des Kultursubstrates von *Didymella lycopersici*.

Versuchs-tempe-ratur °C		Messung nach		
		23 Tagen pH	49 Tagen pH	70 Tagen pH
15—17	Filtrat	6,75	7,41	7,75
	Kontrolle	3,44	3,44	3,44
19—21	Filtrat	6,84	7,72	7,92
	Kontrolle	3,44	3,44	3,44
24—26	Filtrat	6,65	7,16	7,50
	Kontrolle	3,44	3,44	3,44
28	Filtrat	3,58	3,58	3,58
	Kontrolle	3,44	3,44	3,44

Sonstige Veränderungen der Nährlösung.

Die Nährlösung, auf der *Didymella lycopersici* gewachsen war, wurde zunächst auf etwa vorhandene flüchtige toxische Verbindungen untersucht. Zur Feststellung derselben wurden 250 ccm Filtrat einer bei 19—21° C gezogenen, 49 Tage alten Kultur durch Destillation im Vacuum in drei Fraktionen zerlegt. Bei einem Druck von 31 mm, einer Temperatur des zur Erhitzung des Kolbens dienenden Wasserbades von 41—42° C, einer Innentemperatur des Kolbens von 28° C destillierten bei der ersten Fraktion 63 ccm, bei der zweiten 117 ccm über. Die Restfraktion — im Folgenden als Destillat III oder Restdestillat bezeichnet — bestand aus 70 ccm Lösung von schwachbrauner Farbe, die wie die beiden ersten wasserklaren Destillate geruchlos war. Die Messung der pH-Werte nach der Michaelischen Methode (11) mit Farbindikatoren ohne Pufferlösung ergab folgende pH-Werte der Destillate: I = 7,12; II = 5,66; III = 10,15. Da man aus der Veränderung der Reak-

tion nicht ohne weiteres auf Toxizität schließen kann, wurden zur Feststellung der Giftigkeit der einzelnen Lösungen in dieselben je fünf Triebspitzen von $2^1/_2$ Monate alten Tomatenpflanzen gestellt. Nach drei Stunden zeigten die in das Restdestillat gestellten Pflanzen schon außerordentlich starke Welkeerscheinungen. Die Blattstiele hingen vollkommen schlaff nach unten. Die in Destillat I und II gestellten Pflanzen waren, wie die Kontrollen in unbeimpfter Nährlösung und destilliertem Wasser, vollkommen frisch.

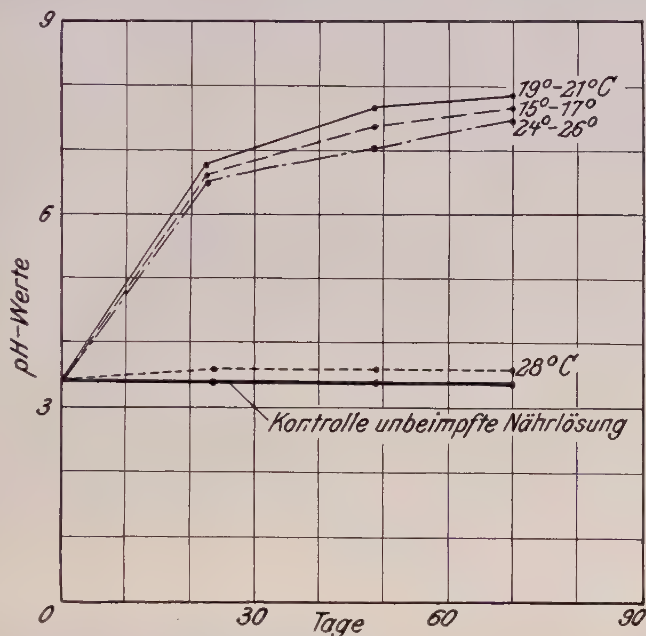


Abb. 7.
Reaktionsänderung des Kultursubstrates von *Didymella lycopersici*.

Die zu gleicher Zeit in unbehandeltes Originalfiltrat gestellten Pflanzen zeigten auch schon schwache Welkeanzeichen, jedoch war ein deutlicher Unterschied zwischen diesen und den in Destillat III gestellten Pflanzen wahrzunehmen. Das verschiedene Verhalten erklärt sich aus der erhöhten Konzentration des letzteren. Obwohl die Pflanzen länger in Destillat I und II standen, trat kein Welken ein. Sie waren nach zwei Tagen noch ebenso frisch wie die Kontrollpflanzen in destilliertem Wasser.

Aus diesem Versuch ergab sich, daß keine für die Pflanzen giftigen flüchtigen Stoffe von dem Pilz während seines Wachstums auf der Nährlösung gebildet wurden. Das Restdestillat erwies sich ja giftiger für die Pflanze als das unbehandelte Filtrat. Die pH-Werte lassen darauf schließen, daß bei den ersten Destillaten fast nur reines Wasser übergegangen ist.

In ähnlicher Weise untersuchte Rosen (14) die Ausscheidungsprodukte von *Fusarium vasinfectum*. Seine von unseren Resultaten abweichenden

Versuchsergebnisse sind auf die Unvollkommenheit seiner Arbeitsmethode zurückzuführen.

Um die Zusammensetzung des für die Tomaten so giftigen Restdestillates zu untersuchen, wurden die folgenden in der Tabelle 11 angegebenen Reaktionen ausgeführt:

Tabelle 11.

Untersuchung auf	Angewandtes Reagens	Untersuchungsergebnis
Ammoniak	Neßler Reagens	negativ
Freie Aminogruppen . .	Ninhydrin	positiv
Oxalsäure	Kalziumchloridlösung + Essigsäure	positiv

Die Untersuchung der beiden ersten Destillate mit Ninhydrin verlief vollkommen negativ, wieder eine Bestätigung dafür, daß nur das in der Nährlösung enthaltene Wasser überdestilliert war. Da der Nachweis des Vorkommens von Aminostickstoff durch die Ninhydrinreaktion bei dem Restfiltrat einwandfrei erbracht worden war, war seine quantitative Bestimmung zweckmäßig, um ein Bild über die vorhandene Menge zu bekommen. Die Bestimmung erfolgte mit Hilfe des Verfahrens von van Slyke (19). Die gasvolumetrische Messung ergab 0,126 mg NH_2—N auf ein ccm Restdestillat. In 70 ccm Restdestillat waren $70 \cdot 0{,}126$ mg = 8,820 mg NH_2—N enthalten, — oder auf 250 ccm Gesamtfiltrat entfielen, da bei den ersten beiden Destillaten die Ninhydrinreaktion vollkommen negativ verlief, 8,820 mg NH_2—N.

Es wurde nun versucht, den Körper, der die Aminogruppe gebunden hält, auszufällen. Da das Restdestillat vollkommen aufgebraucht worden war, wurde neues Filtrat zu ungefähr der gleichen Konzentration eingedampft. Die zur Ausfällung verwendeten Reagenzien und die Ergebnisse sind in der Tabelle 12 niedergelegt. Da der Aminostickstoff im Filtrat nur in sehr geringen Mengen vorhanden war, gelang seine Ausfällung nur mit stark konzentrierter Goldchloridlösung.

Tabelle 12.

Versuchslösung	Reagens	Ergebnis
Filtrat	Silico-wolframsäure	schwache Trübung, aber keine eigentliche Ausfällung
Filtrat	Pikrinsäure	keine Ausfällung
Filtrat	verdünnte Goldchloridlösung	keine Ausfällung
Filtrat	stark konzentrierte Goldchloridlösung	schwache Trübung und Ausfällung, verstärkt durch Erwärmung

Es scheint daher, daß die Wirkung des NH_2-Körpers für die Welkeerscheinung von ausschlaggebender Bedeutung ist. Natürlich können daneben

auch noch andere Abbauprodukte in Frage kommen. Daß sie nicht auf einer Veränderung der Reaktion nach der alkalischen Seite hin beruht, zeigt das Einstellen von Tomatentriebspitzen in basische Lösungen vom pH-Werte des Filtrats. In diesen Lösungen trat kein Welken in einem bestimmten Zeitraum ein. Die Veränderung der Reaktion des Substrates stellt somit einen indirekten Beweis für das Vorhandensein des vom Pilz ausgeschiedenen Aminostickstoffes dar, den wir kurz als Toxin bezeichnen. Die weitere Untersuchung, in welcher Weise die NH_2-Gruppe gebunden ist, bedarf größerer chemischer Hilfsmittel und kam für unsere Arbeit nicht in Betracht.

Es war nun nachzuprüfen, ob diese Umsetzung des vom Pilz aufgenommenen Stickstoffes — bei der Nährlösung diente als Stickstoffquelle KNO_3 — auch unter natürlichen Verhältnissen in der von dem Parasiten befallenen Pflanze genau so vor sich geht. Als Reagens diente in gleicher Weise Ninhydrin.

Schnitte durch gesunde und infizierte Tomatenstengel wurden mit etwas destilliertem Wasser unter Zusatz einer geringen Menge Ninhydrin schwach aufgekocht. Wenn auch infolge der in der Pflanzenzelle vorkommenden geringen Mengen von freien Aminogruppen die Ninhydrinreaktion schwach positiv verlief, so war doch ein deutlicher Unterschied in der Reaktion bei den gesunden und kranken Pflanzen wahrzunehmen. Die Schnitte gesunder Pflanzen zeigten einen schwach blauen Farbton mit schwacher Rotfärbung, die Schnitte kranker Pflanzen einen tiefroten bis violetten Farbton.

Untersuchungen über die vom Pilz ausgeschiedenen Enzyme.

Unter natürlichen Verhältnissen muß der Aktivierung der Toxine und der Vergiftung des Plasmas ein Vorgang parallel gehen, der die Zellwand zur Lösung bringt und dem Pilz das Eindringen ermöglicht. In welcher Weise dies geschieht, soll durch weitere Untersuchungen der enzymatischen Stoffwechselvorgänge gezeigt werden. Um die vom Pilz ausgeschiedenen Enzyme zu gewinnen, wurde derselbe in der gleichen Nährlösung wie bei den Toxinversuchen kultiviert. Die durchschnittliche Versuchstemperatur betrug $+ 20^0$ C. Nach 10 Wochen wurde der gesamte Inhalt der Kolben filtriert und das Filtrat, welches wir im folgenden kurz als Fermentlösung bezeichnen, verwendet: a) zur Aufspaltung von Pektin, b) von Stärke, c) von Rohrzucker. Die Aufspaltung wurde in 4 $^0/_0$igen Lösungen von Pektin, Stärke und Rohrzucker in destilliertem Wasser untersucht.

Die Herstellung des Pektins erfolgte nach den Angaben von F. Ehrlich (1). In lauwarmem Wasser — zur Entfernung etwaiger Fremdstoffe und noch vorhandenen Zuckers — ausgewaschene Zuckerrübenschnitzel wurden unter Zusatz von destilliertem Wasser im Wasserbad ungefähr 2 Stunden ausgekocht. Der Auszug wurde nach Filtration in einer Porzellan-

schale auf dem Wasserbade weiter eingedampft. Der bräunliche, aus glänzenden Schuppen und Blättchen bestehende Rückstand ist Rübenpektin.

Je 10 ccm der 4 %igen Versuchslösungen wurden mit je 10 ccm der verschiedenen Fermentlösungen zusammengebracht. Da ein Vorversuch zeigte, daß die Pektinaufspaltung mit unverdünnten Fermentlösungen außerordentlich schnell verläuft, — eine 4 %ige Pektinlösung wurde von der gleichen Menge Fermentlösung schon in drei Stunden vollkommen aufgespalten, — so wurden folgende verdünnte Lösungen hergestellt: a) 1 ccm Fermentlösung auf 50, b) auf 100, c) auf 250, d) auf 500 ccm destilliertes Wasser. Sofort nach Mischung (z. B. Pektin-Ferment) wurde ein Teil der Lösung zur Kontrolle entnommen und 1/4 Stunde in einem kochenden Wasserbad zur Abtötung der Fermente erhitzt. Sämtliche Kolben fanden, wie die Kontrollen, Aufstellung im Brutschrank bei + 37° und wurden zum Schutz gegen Verunreinigungen durch Bakterien mit Toluol versetzt (etwa drei Tropfen auf je 10 ccm Lösung). Die Bestimmung der Aufspaltungsprodukte erfolgte quantitativ nach der Methode von Hagedorn-Jensen (4). Neben der Versuchslösung wurde zu gleicher Zeit der Blindwert der Kontrollösungen in gewissen Zeitabständen bestimmt und dieser von den erhaltenen Versuchswerten abgezogen.

Da nach den Untersuchungen von F. Ehrlich (1) die Pektinstoffe der pflanzlichen Zellwand aus Galakturonsäure, Arabinose, Galaktose, Essigsäure und Methylalkohol bestehen, so ist es mit Hilfe der Methode von Hagedorn-Jensen möglich, eine Aufspaltung durch Bestimmung der beim Zerfall des Pektins entstehenden reduzierenden Zuckerarten nachzuweisen. In gleicher Weise gilt dies für die Stärke und den Zucker. Die Bestimmung selbst erfolgte dadurch, daß in den angegebenen Zeiten den Kolben mit

Tabelle 13.

Aufspaltung in Milligramm reduzierender Substanz, bezogen auf Glukose.

	Bestimmung nach				
	9 1/4 Std. mg	24 1/2 Std. mg	48 1/2 Std. mg	71 1/2 Std. mg	124 Std. mg
Pektin + Ferment a	0,046	0,071	0,089	0,116	0,125
Pektin + Ferment b	0,042	0,063	0,066	0,082	0,094
Pektin + Ferment c	0,028	0,047	0,058	0,063	0,073
Pektin + Ferment d	0,025	0,035	0,050	0,057	0,070

	Bestimmung nach			
	25 Std. mg	49 1/2 Std. mg	73 Std. mg	125 Std. mg
Rohrzucker + Ferment a	0,014	0,027	0,043	0,056
Rohrzucker + Ferment b	0,008	0,014	0,036	0,050
Stärke + Ferment a	0,002	0,029	0,036	0,068
Stärke + Ferment b	0,001	0,015	0,019	0,032

den Fermentgemischen je ein ccm entnommen und dieser in einem Meßkolben auf 25 ccm destilliertes Wasser aufgefüllt wurde. Die in folgender Tabelle 13 und Abb. 8 niedergelegten Versuchswerte stellen die in einem ccm dieser verdünnten Lösung bestimmten mg reduzierender Substanz, bezogen auf Glukose, dar. Danach erfolgte die stärkste und schnellste Aufspaltung bei den konzentrierten Fermentgemischen.

Durch diesen Versuch wurde der Beweis erbracht, daß der Pilz sowohl zur Stärke- und Rohrzucker- als auch zur Pektinspaltung imstande

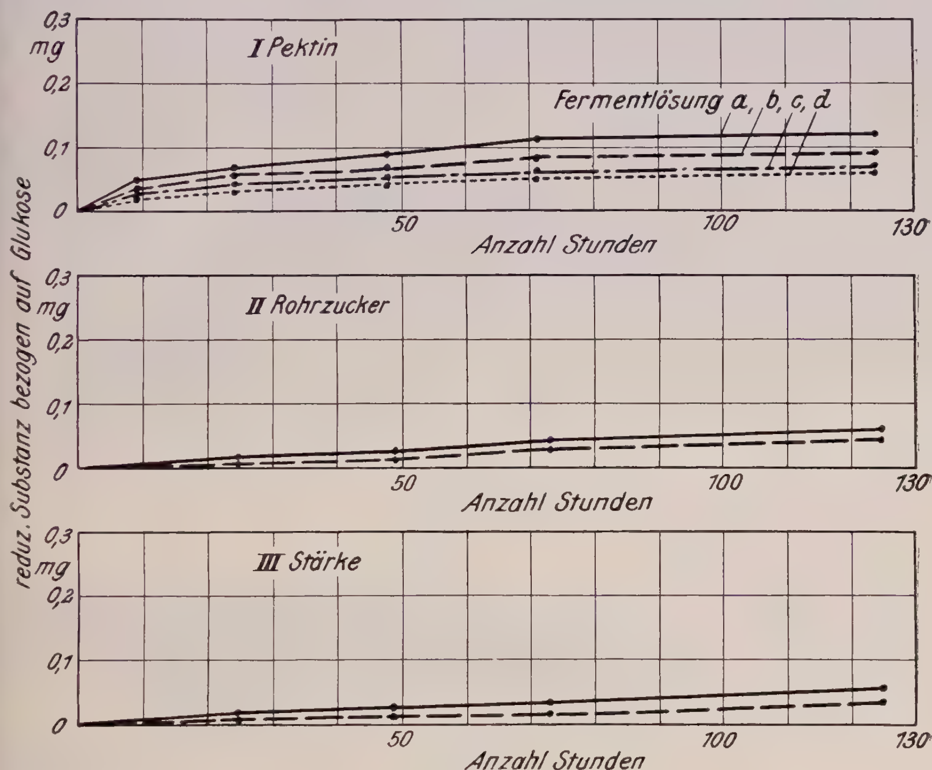


Abb. 8.
Aufspaltung von Pektin, Rohrzucker und Stärke
in ihre Komponenten.

ist. Die ausgesprochene Fähigkeit des Parasiten zur Auflösung der die Mittellamelle der pflanzlichen Zellwand bildenden Pektinstoffe erklärt auch seine starke Zerstörungskraft im Pflanzengewebe.

III. Das Verhalten des Pilzes auf der Pflanze.

Der Einfluß des Alters der Tomatenpflanzen auf die Infektion.

Von einer Reihe von fakultativen Parasiten ist bekannt, daß die Empfänglichkeit ihrer Wirtspflanzen in hohem Maße von deren Entwicklungszustand abhängig ist. Manche Pflanzen werden nur im Jugendzustand,

andere erst nach der Überschreitung des Höhepunktes ihrer Entwicklung befallen. Zur Klärung der Frage, inwieweit das Alter der Tomatenpflanzen und ihr Entwicklungszustand auf die Infektion gegenüber *Didymella lycopersici* von Einfluß sind, wurden folgende, verschieden alte Tomatenpflanzen (Sorte Lukullus) infiziert: 1. 10 drei Wochen alte Pflanzen, 2. 5 zwei Monate alte Pflanzen, 3. 5 drei Monate alte Pflanzen. Die Beimpfung der Pflanzen erfolgte durch Übertragung von 2 Tropfen Sporenaufschwemmung auf zwei gegenüberliegende Stellen der Stengel einige cm über dem Erdboden. Die Versuchstemperatur betrug während der ersten 10 Tage im Durchschnitt um 8 Uhr +16,5° C, um 12 Uhr +21,7° C, um 18 Uhr +19° C. Bei der ersten Untersuchung nach 3 Tagen waren an den Impfstellen der Stengel der älteren Pflanzen feine Tröpfchen zu beobachten. Die beimpften jüngeren Pflanzen zeigten diese Reaktion nicht oder nur in geringem Maße. Nach 4 Tagen traten die für die Infektion typischen Verfärbungen der Impfstellen bei den älteren Pflanzen in Erscheinung. Bei den jüngeren Pflanzen waren die Verfärbungen meist schwächer und außerdem nur bei 3 Pflanzen wahrzunehmen. Nach 7 Tagen begann das infizierte, tiefbraun verfärbte Gewebe einzusinken. Während also bei allen älteren Pflanzen die Beimpfung positiv verlief, gelang eine Infektion der jüngeren Pflanzen nur in 3 Fällen.

Dieser Versuch zeigt, daß der Pilz die günstigsten Infektionsbedingungen bei älteren Pflanzen findet. Klarer treten diese Unterschiede in den später ausgeführten Versuchsserien mit Pflanzen, die in verschiedenen Altersstadien und bei verschiedener Temperatur infiziert wurden, in Erscheinung.

Empfänglichkeit verschieden ernährter Tomatenpflanzen gegen *Didymella lycopersici.*

Über den Einfluß der Ernährung auf die Empfänglichkeit für Parasiten wurden die ersten grundlegenden experimentellen Untersuchungen im Bonner Institut für Pflanzenkrankheiten ausgeführt. Bei einer großen Anzahl von krautigen und holzigen Gewächsen und für die verschiedensten Parasiten hat sich grundsätzlich erwiesen, daß Stickstoff- und Phosphorsäure-Mangelpflanzen wenig anfällig, dagegen mit reichlich Stickstoff und geringer Kaligabe herangezogene Gewächse stark empfänglich gegenüber Parasiten sind, während die normal ernährten und mit reichlichen Kali- und Phosphorsäuremengen versorgten Pflanzen eine Zwischenstellung einnehmen.

Der folgende Versuch wurde in der von Schaffnit und Volk (18) für gleichartige Versuche beschriebenen Weise angesetzt. Am 26. März in sterilisierte Komposterde im Gewächshaus in Töpfen ausgesäte Tomaten (Sorte Lukullus) wurden am 17. Mai in glasierte, mit Sandtorfgemisch angefüllte und mit den einzelnen Nährstoffen versehene Tontöpfe von 3 l

Inhalt gepflanzt. Nach deutlichem Hervortreten der einzelnen Ernährungsunterschiede wurden die Pflanzen am 24. Juni mit Sporen einer Reinkultur in der Weise beimpft, daß mit einem feinen Haarpinsel auf markierte Blätter jeder Pflanze je 2 Tropfen einer Sporenaufschwemmung übertragen wurden. In gleicher Weise wurde der Stengel jeder Pflanze mit je 1 Tropfen der Sporenaufschwemmung an zwei gegenüberliegenden Seiten einige cm über dem Erdboden beimpft. (Aufstellung der Pflanzen während der ersten drei Tage unter Glasglocken, dann im Freien an einer vor Zugluft geschützten Stelle). Die Versuchstemperatur betrug im Durchschnitt während der ersten Tage um 8 Uhr + 14,6°, um 12 Uhr + 17°, und um 18 Uhr + 16,8° C.

Die nach 6 Tagen vorgenommene Untersuchung führte uns klar die durch die Infektion bedingten und bekannten Krankheitssymptome in allen Versuchsreihen vor Augen. Die Beimpfungen waren bei allen Pflanzen auf den Blättern wie auf den Stengeln von Erfolg, obgleich die Infektionsstärke und die Ausbreitung des Parasiten auf der Wirtspflanze bei den verschieden ernährten Pflanzen Unterschiede aufwiesen.

Starke Infektion zeigten die Phosphorsäure-Mangelpflanzen. Ihre große Anfälligkeit ist dadurch zu erklären, daß sie durch den Nahrungsmangel im Wachstum stark gehemmt waren und sich dadurch länger in einem für den Pilz anfälligen Stadium befanden. Neben dieser durch den Nährstoffmangel verursachten Wachstumshemmung spielte sicher die mangelhafte Ausbildung des mechanischen Gewebes eine Rolle. Bei der Stickstoffreihe liegen die Verhältnisse etwas anders. Wenn auch die kleinen Blätter der N-Mangelpflanzen schneller einer Infektion erlagen als die Blätter der N-Überschußpflanzen mit ihren vielfach größeren Blattspreiten, so zeigte sich doch eine Zunahme des Befalls und der Ausbreitung des Parasiten bei starker Stickstoffzufuhr. In der Kalireihe erwiesen sich die Kalimangel- und Kaligeringpflanzen hochanfällig. Bei den Kaliüberschußpflanzen war eine schwache Resistenz wahrzunehmen. Das Umbrechen des Stengels infolge Infektion trat zuerst bei den Phosphorsäure-Mangelpflanzen ein, in kurzen Abständen folgten die Pflanzen der verschiedenen Reihen. Am längsten hielten sich die kräftig entwickelten N-Überschußpflanzen, bei denen der Pilz die längste Zeit brauchte, um den starken Stengel zu durchwachsen. Unterschiede in der Inkubationszeit waren bei den verschieden ernährten Pflanzen nicht zu beobachten.

Die Ergebnisse des Ernährungsversuches weichen in Bezug auf die Phosphorsäurereihe von den Versuchsresultaten ab, die mit einer großen Reihe anderer Parasiten an verschieden ernährten Pflanzen gewonnen und in der Einleitung des Kapitels bereits kurz resumiert worden sind. Die für *Didymella lycopersici* konstatierten Abweichungen von der Regel sind wie folgt zu erklären: bei *Didymella lycopersici* handelt es sich um einen Parasiten, der zu starker Pektinspaltung befähigt ist. Für einen derartigen

Parasiten wird, falls eine Infektion überhaupt möglich ist, weit mehr als für die von Schaffnit und Volk untersuchten Blattfleckenpilze die mechanische Ausbildung der Wirtspflanze für ein schnelles Vordringen von ausschlaggebender Bedeutung sein. Berücksichtigen wir in diesem Sinne die von Volk und Tiemann (23) vorgenommenen anatomischen Untersuchungen verschieden ernährter Pflanzen, so werden uns die bei *Didymella lycopersici* gewonnenen Resultate ohne weiteres verständlich, vornehmlich das Ergebnis, daß die kleinen, mechanisch schlecht ausgebildeten Phosphorsäure-Mangelpflanzen sehr schnell von dem Pilz zerstört werden.

Einfluss der Entwicklungsgeschwindigkeit der Tomatenpflanze auf ihre Anfälligkeit gegenüber *Didymella lycopersici.*

Auf Grund der aus verschiedenen Infektionsversuchen gewonnenen Erfahrung lag die Vermutung nahe, daß neben der Beeinflussung der Lebensweise des Parasiten die Entwicklungsgeschwindigkeit der Wirtspflanze von entscheidender Bedeutung für das Gelingen und den Verlauf der Infektion war.

Die Ergebnisse der zur Klärung dieser Frage angelegten Versuche sind in der Tabelle 14 zusammengefaßt. Es sei noch bemerkt, daß die Beimpfung der Pflanzen in der Weise erfolgte, daß je 2 Tropfen Sporenaufschwemmung auf die Stengel aufgetragen wurden.

Es ergibt sich aus diesem Versuch, daß junge Tomatenpflanzen im Gegensatz zu älteren ausgewachsenen Pflanzen bei einer Temperatur von $+22^0$ und höher dem Angriff des Pilzes besser widerstehen können als bei niedriger Temperatur. Während z. B. die Tomatensorte Lukullus sehr anfällig gegen *Didymella lycopersici* ist, sind ihre jungen Pflanzen bei $+22^0$ weitgehend resistent. Diese Resistenz ist vielleicht darin begründet, daß durch das schnelle Wachstum und die erhöhte Aktivität des Plasmas der jungen Pflanzen eine Neutralisation des vom Pilz zur Abtötung der Wirtszelle ausgeschiedenen, wie es scheint, alkalischen Toxins stattfindet. Die nach 17 Tagen gemachte Aufnahme (Abb. 9) zeigt in sehr anschaulicher Weise das Infektionsergebnis an den bei verschiedener Temperatur aufgestellten und infizierten jungen Pflanzen.

Die Pflanzen waren zur Zeit der Infektion alle gleich groß. Die auf dem Bilde sichtbaren starken Größenunterschiede waren nur durch das verschieden schnelle Wachstum bei den angegebenen Versuchstemperaturen zustande gekommen.

Prüfung des Einflusses der Reaktion des Bodens auf die Bodeninfektion.

Zu diesem Versuch wurde der gleiche Boden benutzt, der auch zur Prüfung des saprophytischen Wachstums des Pilzes gedient hatte. Die aus der Tabelle 6 zu ersehenden Kalkmengen wurden auch hier beibehalten.

Tabelle 14.

Alter der Pflanzen (Sorte Lukullus)	Größe cm	Anzahl der infizierten Pflanzen	Versuchstemperatur + 5° C		Versuchstemperatur + 12° C		Versuchstemperatur + 22° C	
			Untersuchung nach		Untersuchung nach		Untersuchung nach	
			8 Tagen	16 Tagen	8 Tagen	16 Tagen	8 Tagen	16 Tagen
3 Wochen	2,5	10	Beimpfungen positiv. Verfärbung der Infektionsstellen	10 Pflanzen an der Stengelinfektionsstelle umgebrochen	Beimpfungen positiv. Verfärbung der Infektionsstellen	Drei Pflanzen umgebrochen	Bis auf eine Ausnahme Beimpfung negativ	Keine Pflanze umgebrochen
2 Monate	17	3	Beimpfungen positiv. Verfärbung der Infektionsstellen	Zwei Pflanzen umgebrochen	Beimpfungen positiv. Verfärbung der Infektionsstellen	Drei Pflanzen umgebrochen	Beimpfungen positiv. Verfärbung der Infektionsstellen	Zwei Pflanzen umgebrochen
3 Monate	30	3	Beimpfungen positiv. Verfärbung der Infektionsstellen	Zwei Pflanzen umgebrochen	Beimpfungen positiv. Verfärbung der Infektionsstellen	Zwei Pflanzen umgebrochen	Beimpfungen positiv. Verfärbung der Infektionsstellen	Drei Pflanzen umgebrochen

Der gut gemischte und auf 60 % Wasserfassungsvermögen angefeuchtete Boden der einzelnen Reihen wurde in 1,5 kg fassende unglasierte Tonschalen eingefüllt. Nach Entfernung der oberen Bodenschicht bis zu einer Tiefe von 3,5 cm wurde das Infektionsmaterial[1]) gleichmäßig ausgebreitet



+ 22° C   + 12° C   + 5° C

Abb. 9.
Einfluß der Entwicklungsgeschwindigkeit der Tomatenpflanze auf ihre Anfälligkeit für *Didymella lycopersici.*
Die Pfeile weisen auf die Infektionsstellen hin.

und mit einer dünnen Schicht der abgenommenen Erde bedeckt, auf die mit der Pincette in 4 Reihen je 8 Samen (Sorte Lukullus) einzeln ausgelegt und schwach angedrückt wurden. Die wiederum aufgelegte, gerade die Samen bedeckende Erdschicht erhielt wieder Infektionsmaterial, welches zum Schutze gegen Verunreinigung noch dünn mit Erde bedeckt wurde. — Bei den im Gewächshaus unter Glocken aufgestellten Töpfen des am 3. April angesetzten Versuches hatte der Pilz schon nach 3 Tagen die dünne, das Infektionsmaterial bedeckende Erdschicht durchwachsen und trat als weißes flockiges Myzel an der Oberfläche in Erscheinung. Der Auflauf der Samen erfolgte zuerst in den Kontrolltöpfen, während er sich in den mit Infek-

[1]) Als Infektionsmaterial diente ein vom Pilz durchwachsenes Gemisch von Gerste-Haferschrot.

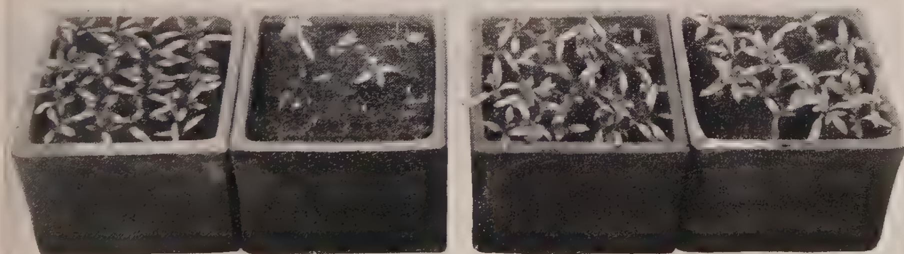
tionsmaterial versehenen Töpfen um 1—2 Tage verschob. Infolge der Beeinflussung durch die relativ dicke Deckschicht wurde ein Teil der Keimlinge von dem Pilz schon angegriffen und zerstört, noch ehe sie ihre



Abb. 10.
Mit *Didymella lycopersici* infizierte Tomatenkeimlinge.

Keimblätter entfalten konnten. An den Wurzeln erschienen anfangs hellbraune, später sich dunkel verfärbende Flecken, wie es Abb. 10 zeigt.

Um ein Vergeilen der Pflanzen zu verhüten, wurden sie am 14. April in einer offenen Glashalle im Freien untergebracht. Die erste Feststellung des Infektionsergebnisses erfolgte am 23. April, die endgültige am 19. Mai. Neben den vom Parasiten abgetöteten Pflanzen wurden auch die nur mit Anzeichen von Infektion versehenen festgestellt.



Kontrolle Infiziert Kontrolle Infiziert
pH 3,9 Abb. 11. pH 8,10
Einfluß der Reaktion des Bodens auf die Bodeninfektion.

Die Zahlenwerte der Tabelle 15 und der Verlauf der Kurven der graphischen Darstellung (Abb. 12) zeigen, daß der volle Infektionserfolg bei pH 3,9 nach dem Neutralpunkt und darüber hinaus stark abfällt, um bei pH 8,10 nur noch 44,8 % zu betragen. Von diesen mit Anzeichen von Infektion versehenen Pflanzen war aber bis zum 19. Mai nur eine geringe Zahl vollkommen abgestorben.

Tabelle 15.

Bei pH	3,9	— 100 %	Infektion	— 94 %	Pflanzen abgestorben
„ „	5,23	— 80,7 %	„	— 73 %	„ „
„ „	6,95	— 76,4 %	„	— 59,2 %	„ „
„ „	7,60	— 53,2 %	„	— 35 %	„ „
„ „	8,10	— 44,8 %	„	— 23 %	„ „

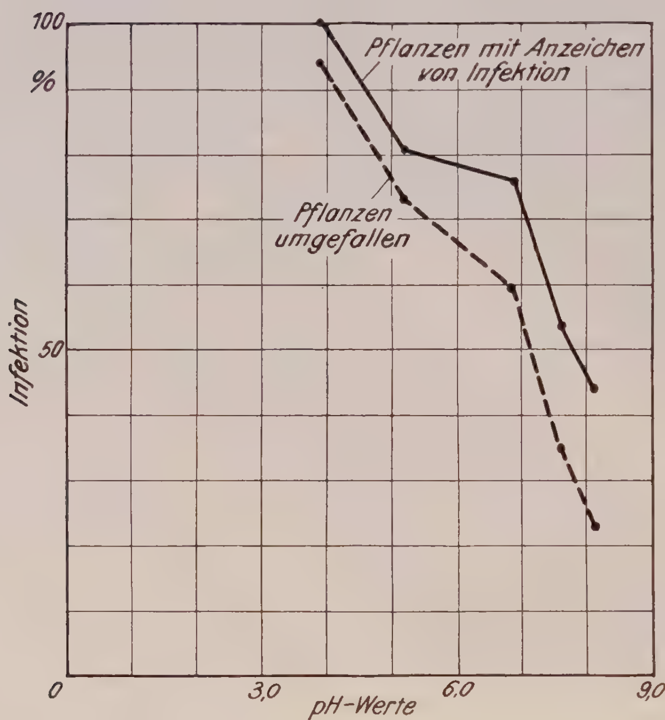


Abb. 12.
Bodeninfektionsversuch mit *Didymella lycopersici.*

Einfluss der Reaktion des Bodens auf die Infektion der oberirdischen Teile der Tomate.

Schaffnit und Meyer-Hermann (17) zeigten, daß die Bodenreaktion nicht nur die Entwicklung der Parasiten, sondern auch die Infektion ihrer Wirtspflanzen beeinflußt. Untersuchungen in gleicher Richtung mit *Didymella lycopersici* führten zu dem Ergebnis, daß die Bodenreaktion auf die Infektion der oberirdischen Teile der Tomate insofern von Einfluß ist, als die Pflanzen bei pH 3,9 bis ± 4,8 im Wachstum stark gehemmt werden. Diese der Angriffskraft des Parasiten und seiner zerstörenden Wirkung länger ausgesetzten Pflanzen erliegen daher schneller einer Infektion. Der beschleunigten Entwicklung bei alkalischer Reaktion (pH 8,0) geht eine verminderte Anfälligkeit parallel.

Die Erhaltung des Parasiten.

Zur Untersuchung der Lebensfähigkeit von Sporen wurden infizierte Tomatenstengel im Laboratorium verschieden lange Zeit aufbewahrt und dann die Sporen durch Aussaat in kleine, feuchte Kammern auf ihre Keimfähigkeit geprüft. Das Ergebnis war folgendes:

Tabelle 16.

Alter der Sporen	Untersuchung auf Keimfähigkeit nach 24 Stunden
3 Monate	Normale Keimung
14 Monate	Verzögerung der Keimung
24 Monate	Nur vereinzelte Sporen gequollen. Keine Keimung

Aus diesem Versuch geht hervor, daß die Lebensfähigkeit der Pycnosporen eine außerordentlich hohe im Vergleich zu der anderer Pilze ist. Die Verzögerung der Keimung ist wohl dadurch zu erklären, daß die Spore infolge Austrocknung der Membran durch die lange und trockene Lagerung längere Zeit braucht, um genügend Wasser aufzunehmen und den zur Keimung notwendigen Quellungszustand zu erreichen. Bei Lagerung in Räumen mit höherer Luftfeuchtigkeit, wie sie im allgemeinen im Zimmer herrscht, mag die Grenze der Lebensfähigkeit der Sporen noch weit höher liegen.

Die Ausbreitung des Parasiten.

Angaben über die Ausbreitung des Pilzes finden sich in der Literatur bei Hahmann (3), der annimmt, daß der Pilz mit dem Samen verbreitet wird. Dies ist sicher nicht unmöglich, wenn der Samen an Stellen gewonnen wird, an denen der Parasit stark verbreitet ist, sodaß die Sporen auf mechanischem Wege oder durch Luftübertragung zu den für den Handel bestimmten Samen gelangen können. Soweit es sich nicht um eine vom Samen ausgehende Infektion der Pflanzen handelt, soll nach dem gleichen Autor die Infektion der Pflanzen vom Boden aus erfolgen. — Neben der sicher häufig stattfindenden Bodeninfektion muß auch eine Übertragung in anderer Weise in Frage kommen, da bei den im Freien infizierten Pflanzen oft Blatt- und Stengelinfektionen an den oberen Sproßteilen festzustellen waren.

Zur Prüfung, ob und inwieweit eine Übertragung und Verschleppung der Sporen durch die Luft möglich ist, wurde eine stark infizierte Tomatenpflanze, die neben starker Stengelinfektion auch zahlreiche Blattinfektionen mit vollentwickelten Pycniden aufwies, an einem Stativ eingeklemmt und mit Wasser leicht überbraust, um die Entleerung der in den Pycniden enthaltenen Sporen zu erzielen. Ein nach einigen Minuten untersuchter Tropfen, der von den unteren Blättern der Pflanze abgelaufen

war, enthielt eine Unmenge Sporen. Nach dem Eintrocknen der Wassertröpfchen auf der Pflanze wurden in einer Entfernung von 40 cm drei gesunde, gut entwickelte Tomatenpflanzen (Sorte Lukullus) aufgestellt. Mit Hilfe eines Elektromotors wurde die Luft in der Richtung auf die gesunden Pflanzen geblasen. Zur Feststellung, ob von der kranken Pflanze Sporen durch den Luftstrom auf die gesunden gelangten, wurden mit Glyzerin dünn überstrichene Objektträger kurze Zeit zwischen die kranken und gesunden Pflanzen gehalten. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte sich, daß die Objektträger stark mit Sporen bedeckt waren. Der Versuch wurde nach 3 Minuten abgebrochen. Die weitere Beobachtung der in dieser Weise behandelten Pflanzen erfolgte im Gewächshaus in einer feuchten Kammer und ergab, daß nach 6 Tagen sämtliche Pflanzenteile, besonders aber die Blätter, stark infiziert waren.

In gleicher Weise wird man sich auch unter natürlichen Verhältnissen eine Übertragung der Sporen von Pflanze zu Pflanze und deren Infektion vorstellen müssen. Die an den Tomatenpflanzen infolge von Niederschlägen haftenden Wassertropfen veranlassen die Entleerung der Pycniden. Nach dem Eintrocknen der Wassertropfen haften die Sporen leicht an den Pflanzenteilen und werden durch die leiseste Luftströmung auf benachbarte, vielleicht auch weiter entfernt stehende Tomatenpflanzen übertragen, auf denen sie unter günstigen Umständen keimen und zur Infektion führen.

Eine Übertragung der Krankheit durch Samen ist möglich durch außen anhaftende Sporen oder durch eingewachsenes Myzel, sofern die Samen von infizierten Früchten gewonnen wurden. Wie man dieser Übertragung begegnen kann, wird später erörtert werden.

Der Wirtskreis des Parasiten.

In den über *Didymella lycopersici* veröffentlichten Arbeiten wurde zur Spezialisierung des Pilzes keine Stellung genommen. Um diese Frage eindeutig zu lösen, wurden Infektionsversuche mit einer großen Anzahl von Nachtschattengewächsen angestellt. Den Anlaß zu diesen Untersuchungen gab die Tatsache, daß der Pilz nicht selten im Freien auf *Solanum nigrum* beobachtet werden konnte. Es wurde vor allem eine Reihe von wildwachsenden Solanaceen, die evtl. als Infektionsquelle für Tomaten in Betracht kommen können, untersucht, außerdem verschiedene kultivierte Nachtschattengewächse. Die zu den Infektionsversuchen verwendeten, in sterilisierter Erde herangezogenen Pflanzen waren:

Atropa Belladonna, *Capsicum annuum*, *Datura Stramonium*, *Hyoscyamus niger*, *Lycium halimifolium*, *Nicandra physaloides*, *Nicotiana tabacum*, *Petunia hybrida* var. Rathaus, *Petunia hybrida* var. Prof. Anders, *Physalis francheti*, *Salpiglossis variabilis*, *Schizanthus retusus*, *Solanum cabliense argenteum*,

Solanum capsicastrum, Solanum Dulcamara, Solanum melongena, Solanum nigrum, Solanum tuberosum, Solanum villosum.

Von jeder dieser Pflanzenarten wurden 3 Pflanzen infiziert und zwar je eine auf der unverletzten Epidermis der Blattober- bzw. der Blattunterseite und eine Pflanze durch Beimpfung des Stengels mit zwei Tropfen Sporenaufschwemmung, einige cm über dem Erdboden. Bei einigen Pflanzen wurden außerdem noch die Blüten infiziert, da sich diese als besonders empfänglich erwiesen hatten. — Bei diesen Versuchen führten meist die Blattimpfungen, sowohl der Ober- wie der Unterseite, zum Ziel, während die Stengelimpfungen nur in den allerwenigsten Fällen einen Erfolg zeitigten. Bei einer Anzahl von Pflanzen, wie *Solanum nigrum*, *Nicandra physaloides*, *Physalis francheti* und *Atropa Belladonna*, war relativ leicht eine Infektion zu erzielen, dagegen führte dieselbe bei den übrigen Pflanzen erst nach wiederholten Beimpfungen zum Ziel. Wenn auch das Befallsbild bei sämtlichen Pflanzen das gleiche war, so zeigten sich doch schwache Verschiebungen in der Inkubationszeit und der Ausbreitung des Parasiten. In gleicher Weise traten Unterschiede in der Fruktifikation ein. Während bei *Solanum nigrum* und den eben erwähnten Pflanzen nach 13 Tagen, wie im Gewebe von Tomaten, schon vollentwickelte Pycniden mit keimfähigen Sporen vorhanden waren, zeigten sich bei den anderen Pflanzen Verschiebungen in der Fruktifikationszeit. In den meisten Fällen waren nach 4 bis 5 Wochen noch keine Pycniden zu finden.

Da Small (20) von dem Auftreten von *Diplodina lycopersici*, der nach Höstermann und Noak (6) in den Entwicklungskreis von *Didymella lycopersici* gehörenden Pycnidenfruchtform, an Erdbeeren in Gewächshäusern in England berichtet, wurden Infektionsversuche mit Erdbeerpflanzen (Sorte Elefant) angestellt. Sie führten aber trotz mehrfacher Wiederholung zu keinem Erfolge.

Die Empfänglichkeit der verschiedenen Tomatensorten gegenüber *Didymella lycopersici*.

Die bis jetzt über die Empfänglichkeit der Tomatensorten in der Literatur vorliegenden Beobachtungen sind widersprechend. Es handelt sich teils um Beobachtungen aus der Praxis, die erfahrungsgemäß wenig zuverlässig sind, zum Teil um solche, in denen das Entwicklungsstadium der Pflanze und fernerhin die klimatischen Faktoren (siehe Temperaturversuch S. 24) nicht oder zu wenig berücksichtigt worden sind. Aus diesen Gründen war die systematische Prüfung der vorhandenen Sorten auf experimenteller Grundlage erforderlich. Auf ihre Anfälligkeit wurden 59 der wirtschaftlich wichtigsten und am meisten angebauten Tomatensorten geprüft. Die Aussaat und die Aufzucht erfolgte zu gleicher Zeit und unter gleichen Bedingungen. 2½ Monate alte Tomatenpflanzen, die in desinfizierter Erde herangezogen und später ins Freiland ausgepflanzt worden

waren, wurden am 8. September in der Weise beimpft, daß ein mit Sporenaufschwemmung getränkter Wattebausch jeweils in eine Blattachsel in der Nähe der Triebspitze und in mittlerer Stengelhöhe eingelegt wurde. Dank den in dieser Jahreszeit günstigen Umweltbedingungen war der Infektionserfolg gut. Bei sämtlichen Sorten gelang eine Infektion, wenn auch die Zahl der erfolgreichen Beimpfungen kleine, jedoch innerhalb der Versuchsfehlergrenze liegende Schwankungen aufwies. Eine nach 2½ Wochen durchgeführte Auszählung zeigte geringe Unterschiede in der Ausbreitung des Parasiten auf den einzelnen Sorten. Von manchen Sorten waren schon 50 % der Pflanzen abgestorben, während von anderen nur wenige oder gar keine Pflanzen dem Parasiten erlegen waren. Innerhalb von fünf

Tabelle 17.

Sporenkeimungsversuche in Lösungen von fungidiziden Mitteln.

Keimmedium	Kontrolle nach	
	24 Stunden	54 Stunden
Kontrolle destilliertes Wasser	beginnende Keimung	weiterer geringer Zuwachs
Cosan 0,005 %	beginnende Keimung	weiterer geringer Zuwachs
0,05 „	beginnende Keimung	weiterer geringer Zuwachs
0,5 „	starke Quellung, aber keine Keimung	vereinzelt Keimschläuche
1,0 „	starke Quellung, aber keine Keimung	vereinzelt Keimschläuche
Erysit 0,005 %	beginnende Keimung	weiterer geringer Zuwachs
0,05 „	beginnende Keimung	weiterer geringer Zuwachs
0,5 „	starke Quellung, aber keine Keimung	vereinzelt Keimschläuche
1,0 „	starke Quellung, aber keine Keimung	vereinzelt Keimschläuche
2,0 „	Quellung schwächer, keine Keimung	keine Keimung
Solbar 0,005 %	beginnende Keimung	weiterer geringer Zuwachs
0,05 „	beginnende Keimung	schwache Entwicklungshemmung. Zahl der gekeimten Sporen geringer
0,5 „	starke Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
1,0 „	Quellung schwächer, keine Keimung	keine Keimung
2,0 „	Quellung schwächer, keine Keimung	keine Keimung
Nosperal 0,005 %	Quellung, aber keine Keimung	vereinzelt Keimschläuche
0,05 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
0,5 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
1,0 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
2,0 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
Nosperit 0,005 %	beginnende Keimung	weiterer geringer Zuwachs
0,05 „	beginnende Keimung	schwache Entwicklungshemmung der gekeimten Sporen
0,5 „	Quellung, aber keine Keimung	vereinzelt Keimschläuche
1,0 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
2,0 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
Kupferkalkbrühe 0,005 %	beginnende Keimung	weiterer geringer Zuwachs
0,05 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
0,5 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
1,0 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung
2,0 „	Quellung, aber keine Keimung	keine Keimung

Wochen trat aber eine wesentliche Verschiebung des Bildes ein, da auch bei den anfänglich resistenter erscheinenden Sorten die Infektion jetzt so weit fortgeschritten war, daß nahezu alle Pflanzen umgebrochen oder dem Umbrechen nahe waren. Von sämtlichen geprüften Sorten erwies sich keine als immun gegenüber dem Parasiten. Die nur sehr geringen Resistenzunterschiede zwischen den einzelnen Sorten besitzen keine praktische Bedeutung. Folgende Sorten wurden untersucht:

Abundance, Acme, großer roter, großfrüchtige rote, großfrüchtige früheste rote, großfrüchtige gelbe, kirschförmige gelbe, Alice Roosevelt, allerfrüheste Freiland, Augusta, Beste von Allen, Challenger, Chemin, Dänischer Export, Dänischer Export-Hochzuchtsaat, Early Sunrise, Earliest, Erste Ernte, Exelsior, Express, Ficarazzi, Gonsenheimer Winter, Goldenes Jubiläum, Golden Queen, Heterosis, Johannisfeuer, Julimatador, König Humbert, Königin der Frühen, Kondine Red, Kronprinz Rupprecht, Lukullus, Magnum Bonum, Marktwunder, Matador, Merveille des Marchés, Mikado, Mikado scharlachrote, Nachtwunder, Perfektion, Ponderosa, Ponderosa scharlachrote, Präsident Garfield, Purpurkönig, Radio, Rekordschläger, Rotkäppchen, San Marzano, San Marzano Hochzucht, Schöne von Lothringen, Stone, Stirling Castle, Succes, Triumph, Trophy goldgelbe, Trophy scharlachrote, Tuckswood, Up-to-date, Überreich, Zwerg rote früheste, Marktkugel.

Bekämpfungsversuche.

Die Ergebnisse von Versuchen mit fungiziden Mitteln sowohl zur vorbeugenden wie zur direkten Bekämpfung des Tomatenkrebses widersprechen sich, (siehe Literaturnachweis: Heinsen [5], Naumann [12], Hahmann [3], Ludwigs [9], Esmarch [2], Lüstner [10]), die meisten beziehen sich auf die Anwendung von Kupferkalkbrühe. Das anfänglich empfohlene Uspulun ist, wie Versuche ergaben, nur bis zum Beginn der Tomatenblüte zu verwenden. Über weitere der zahlreichen bekannten fungiziden Mittel des Handels liegen, abgesehen von Solbar, bisher noch keine Erfahrungen vor. Aus diesem Grunde wurden verschiedene schwefel- und kupferhaltige Präparate geprüft. Die fungizide Wirksamkeit der Mittel in verschiedenen Konzentrationen wurde vorher durch Sporenkeimversuche in diesen Lösungen untersucht. Es wurden von Schwefelpräparaten geprüft: Cosan (kolloidaler Schwefel), Erysit (kolloidaler Schwefel), Solbar (Bariumpolysulfit), von Kupferpräparaten: Nosperal und Nosperit (Kupferverbindungen) und vergleichsweise Kupferkalkbrühe.

Nach den in der Tabelle 17 zusammengefaßten Ergebnissen der Sporenkeimungsversuche ist die Grenzkonzentration bei den einzelnen Mitteln recht verschieden. Am wenigsten geeignet erwiesen sich die Schwefelmittel. In 1 $^0/_0$iger Cosan- und Erysitlösung erfolgte noch Keimung. Für Solbar liegt die Grenzkonzentration für die Sporenkeimung bei 0,5 $^0/_0$. Die

stärkste fungizide Wirkung zeigten die Kupfermittel, besonders Nosperal und Kupferkalkbrühe, und etwas schwächere Wirkung Nosperit.

Versuche mit fungiziden Mitteln.

Zur vorbeugenden Bespritzung der Tomatenpflanzen wurden die in Frage kommenden Mittel in den nach den Fabrikvorschriften angegebenen Konzentrationen, die teils nach eigenem Ermessen abgeändert wurden, mit einer kleinen Holderschen Universalspritze mit besonders feinem Vernebler auf die Unterseite wie die Oberseite der Blätter und auf die Stengel von gut entwickelten, im Freien herangezogenen gesunden Tomatenpflanzen (Alter der Pflanzen $3^1/_2$ Monate) gespritzt. Die verwendeten Konzentrationen waren: Cosan 1 %, Erysit und Solbar 1 % und 2 %, Kupferkalkbrühe und Nosperit 1 % und 2 %, Nosperal $1^1/_2$ % und 2 %. Drei Tage nach der Bespritzung wurden von jeder Pflanze 3 bezeichnete Blätter mit je 5 Tropfen Sporenaufschwemmung beimpft und unter Glaskästen, wie sie allgemein im Bonner Institut für Pflanzenkrankheiten Verwendung finden, aufgestellt. Die Deckel derselben wurden wie bei allen anderen Infektionsversuchen nach 3 Tagen entfernt. Die Durchschnittstemperatur betrug 18–20° C. In jeder Reihe wurden 5 Pflanzen bespritzt, von denen 3 beimpft wurden und 2 zur Kontrolle dienten. Die erste Untersuchung erfolgte nach 6 Tagen. An sämtlichen beimpften Pflanzen waren, wenn auch nur ganz vereinzelt, Anzeichen von Infektion zu bemerken. Obgleich die Zahl der Infektionen je nach dem Spritzmittel geringen Schwankungen unterlag, so war doch die Infektion in keinem Falle ganz verhindert worden. Mag auch bei einer künstlichen Beimpfung durch Auftragung von Sporenaufschwemmung mittels Pinsel die Möglichkeit bestehen, daß das Fungizid an der Impfstelle entfernt oder doch verdünnt wird, so zeigen doch die vereinzelten positiven Beimpfungen eindeutig die große Schwierigkeit der praktischen Bekämpfung des Parasiten durch Spritzmittel.

Am geeignetsten erwiesen sich auf Grund der Sporenkeimungsversuche und der Spritzversuche für eine vorbeugende Behandlung gegen *Didymella lycopersici* 1 %iges Nosperal und Kupferkalkbrühe in gleicher Konzentration. Zur Erhöhung der Haftbarkeit der Kupferkalkbrühe setzt man nach Schaffnit (16) am besten 1—2 % Casein zu.

An diese Versuche schlossen sich im Sommer 1931 Freilandversuche unter Hinzuziehung einer Reihe von anderen Mitteln und Methoden an. Die Bekämpfungsversuche zerfielen in

1. vorbeugende Spritz- und Stäubeversuche,
2. vorbeugende Bekämpfungsversuche unter Verwendung von Natronag-Bodenbelag.

Vorbeugende Spritz- und Stäubeversuche.

Von Spritzmitteln fanden Verwendung: Nosperal und Solbar, Kupferkalkbrühe (unter Zusatz von zirka 1 % Casein) und Kupferkalk Wacker, ein von Dr. Alexander Wacker, München, hergestelltes, ohne Kalkzusatz zu verwendendes Pulver. Von Stäubemitteln wurden Horst's Kupferstaub (Horst und Co., Bingen) und Schering Kupferstaub (Schering-Kahlbaum A.G., Berlin) angewendet. Als Versuchspflanzen dienten Stecklinge der Sorten Tuckswood und Lukullus, die nach der Bewurzelung eine zweimalige Bespritzung mit 0,25 %iger Uspulunlösung erfahren hatten. Das Auspflanzen ins Freiland erfolgte Ende Mai im Abstande von 0,90 m zu 1,0 m. Die erste Bespritzung und Bestäubung (mit jedem Mittel wurden 300 Pflanzen behandelt) fand am 10. Juni statt. Hieran schlossen sich zwei weitere Behandlungen in Abständen von 3½ Wochen an.

Hohe Temperaturen und die vereinzelten schauer- und gewitterartigen Niederschläge im Monat Juni hatten eine günstige Entwicklung der Pflanzen zur Folge. Im Juli waren die zahlreichen Niederschläge, die nur von wenigen trockenen Tagen unterbrochen wurden, dem Wachstum der Tomatenpflanzen weiter günstig. Gegen Mitte Juli trat auf den umliegenden Feldern der Tomatenkrebs in starkem Ausmaße auf, während er auf sämtlichen Versuchsparzellen, auch den unbehandelten, noch nicht festzustellen war. Eine am 10. August durchgeführte Auszählung ergab vereinzelt kranke Pflanzen; wesentliche Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Mittel und den unbehandelten Parzellen konnten hierbei nicht festgestellt werden. Die Befallsstärke schwankte zwischen 2 bis 4 %. Den höchsten Prozentsatz kranker Pflanzen wiesen in den behandelten Parzellen die bestäubten Pflanzen auf. Eine stärkere Infektion trat in dem Versuchsstück erst gegen Ende des Monats ein. Zu dieser Zeit waren die Pflanzen bereits so stark belaubt, daß es praktisch kaum möglich war, den Stengel vollständig mit einem schützenden Überzug der Fungizide zu überziehen. Unterschiede zwischen „behandelt und unbehandelt“ waren infolgedessen Ende August-Anfang September nicht festzustellen. Die Tatsache, daß alle Pflanzen der Versuchsparzelle wesentlich später erkrankten und deshalb hier im Ertrag geringere Schäden als in den umliegenden Feldern auftraten, kann vielleicht ihren Grund darin haben, daß infolge mehrmaliger Desinfektion der Jungpflanzen im Anzuchtbeet nur wirklich gesunde Pflanzen zur Auspflanzung kamen.

Auf Grund unserer Versuchsergebnisse kann gesagt werden, daß es durch eine Behandlung der Jungpflanzen möglich ist, gesunde Pflanzen für das Freiland heranzuziehen und damit das Auftreten der Infektion bis zu einer Zeit hinauszuschieben, in der die Schädigungen durch den Pilz wenigstens keine vollständige Mißernte mehr verursachen können. Ein Schutz der wachsenden Pflanzen im Freiland erscheint demgegenüber weniger sicher, wenigstens dann, wenn, wie es im Versuchsjahr der Fall

war, die Mittel durch häufige Platzregen bald wieder zum großen Teil abgewaschen werden. Wegen der Schnellwüchsigkeit der Tomate würde es außerdem erforderlich sein, die Bespritzungen in kurzen Abständen zu wiederholen, da sonst neugebildete Geiztriebe oder auch Stengelteile bald wieder für anfliegende Sporen zahlreiche ungeschützte Eingangspforten bieten. Was nun die Wahl der einzelnen Mittel anbetrifft, so sind die Spritzmittel den Stäubemitteln im allgemeinen infolge leichterer und sicherer Anwendungsweise unbedingt vorzuziehen.

Vorbeugende Bekämpfungsversuche unter Verwendung von „Natronag-Bodenbelag“.

Den vorbeugenden Bekämpfungsversuchen unter Verwendung von „Natronag-Bodenbelag“, einem Erzeugnis der Natronzellstoff- und Papierfabriken A. G. Berlin SW 19, lag der Gedanke zugrunde, neben der durch den Bodenbelag erzielten Wachstumsbeschleunigung der Pflanzen — wie z. B. durch Erhöhung der Bodentemperatur und Einschränkung der Bodenwasserverdunstung — den Boden mit einer Schutzdecke zu überziehen, welche die Aufwirbelung von Sporen aus dem Boden und damit eine Infektion der oberen Tomatenteile verhindert.

Die Pflanzen (Sorte Tuckwood) wurden unter den gleichen Bedingungen wie bei den Spritzversuchen herangezogen und unter Verwendung von Bodenbelag Mitte Mai in Reihenpflanzung im Abstand von 0,90 m zu 1,0 m ausgepflanzt. Die Entwicklung der Pflanzen war allgemein gut. Die Tomaten auf den Parzellen mit Bodenbelag hatten im Wachstum vor den „unbehandelten“ bis Mitte Juli einen kleinen Vorsprung. Bei dem im August einsetzenden starken Regen erwies sich der Bodenbelag jedoch als ein Nachteil. Da das auf dem Bodenbelag sich sammelnde Wasser in der Hauptsache nur durch die Pflanzlöcher abfließen konnte, platzten, offensichtlich infolge des Wasserüberschusses, auf der Parzelle mit Pappe wesentlich mehr Früchte als auf den unbehandelten Parzellen. Als Schutzmittel gegen eine Infektion durch *Didymella lycopersici* war die Pappe unwirksam, denn eine Ende September durchgeführte Auszählung ergab keine wesentlichen Befallsunterschiede zwischen den behandelten und unbehandelten Parzellen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. *Didymella lycopersici* dringt in die Pflanze sowohl durch die unverletzte Epidermis — wie schon Klebahn (8) zeigte —, als auch durch die Stomata ein.
2. Der Parasit besitzt eine ausgesprochene Fähigkeit zur Zerstörung und Auflösung der die Mittellamelle der pflanzlichen Zellwand bildenden Pektinstoffe.
3. Neben zellwandauflösenden Enzymen bildet der Pilz ein für die Wirtszelle tödliches Toxin.

4. Durch Infektionsversuche wurde festgestellt, daß Unterschiede in der Empfänglichkeit verschieden alter Tomatenpflanzen gegenüber dem Parasiten bestehen.
5. Der Einfluß der Ernährung macht sich dahin geltend, daß die kümmerlich entwickelten Stickstoffmangel- und Phosphorsäuremangelpflanzen schneller einer Infektion durch den Parasiten erliegen als die normal ernährten und Überschußpflanzen.
6. Übertragungsversuche des Parasiten auf eine große Anzahl von Solanaceen erbrachten den Beweis, daß der Pilz keineswegs auf die Tomate spezialisiert ist, sondern einen wesentlich größeren Wirtskreis besitzt und auf einem Teil dieser Pflanzen, in der gleichen Zeit wie auf der Tomate, Fruchtkörper mit normal keimfähigen Sporen zur Entwicklung bringt.
7. Von besonderem Einfluß auf die Infektion ist die Temperatur. Sie macht sich weniger in einer Beeinflussung des Parasiten als des Wirtes geltend (Wachstumsförderung).

   Eine Temperatur von 22° C wirkt resistenzerhöhend auf Sämlinge gegenüber Wärmegraden von + 5° bis + 15°. Das Gelingen der Infektion ist von der Luftfeuchtigkeit abhängig.
8. Stark saurer Boden wirkt infektionsbegünstigend auf Sämlinge.

   Sporenkeimung tritt ein von pH 4,3 bis pH 7,4; sie unterbleibt bei pH 8,2. Myzelwachstum findet statt von pH 3,9 bis pH 8,10. Das Optimum liegt bei 5,23.
9. Der Pilz besitzt eine sehr hohe Lebensfähigkeit, sowohl in Sporen- wie in Myzelform.

Nutzanwendungen für die Praxis.

Für die praktische Bekämpfung des Tomatenkrebses kommen in erster Linie vorbeugende Maßnahmen in Frage. Nach unseren Untersuchungen ist es notwendig, nur einwandfreies, von gesunden Früchten stammendes Saatgut zu verwenden.

Besondere Aufmerksamkeit ist ferner dem für die Kultur der Tomate verwendeten Boden zu schenken. Da Kalkgaben, die eine Umstimmung der Bodenreaktion bis zu pH 8,10 veranlassen, die Ausbreitung des Parasiten durch Hemmung seiner saprophytischen Entwicklung im Boden verhindern, diese Reaktion aber für die Entwicklung der Tomate sehr günstig ist, hat man stets für eine ausreichende Kalkung der Felder Sorge zu tragen.

Ein vom Parasiten verseuchter Boden darf nur dann wieder zur Anzucht verwendet werden, wenn zuvor eine gründliche Desinfektion stattgefunden hat. Diese geschieht, soweit es sich nur um kleinere Anbauflächen handelt, auf einfachste und sicherste Weise durch eine Dämpfung des Bodens bei + 65° bis + 70° C auf die Dauer einer halben Stunde.

Die Desinfektion größerer Flächen erfordert dagegen eine Behandlung mit chemischen Mitteln (am besten mit Uspulun der I.G.-Farben durch Lösung von 50 bis 75 g pro Quadratmeter. Die chemische Desinfektion muß 14 Tage bis 3 Wochen vor der Aussaat beendet sein.) Neben der Behandlung des Bodens hat eine Desinfektion der bei der Kultur der Tomaten zu verwendenden Anzuchtbeete, Anzuchthäuser und Geräte zu erfolgen, am sichersten durch Abspritzung mit 0,25 %iger Uspulunlösung.

Neben diesen allgemein vorbeugenden Maßnahmen ist der Kultur der Tomatenpflanze selbst besondere Beachtung zu schenken. In den Gewächshäusern muß eine gleichmäßige Temperatur von + 20° bis + 25° C herrschen, um Wachstumsstockungen, die eine erhöhte Anfälligkeit der Tomaten zur Folge haben, zu verhüten. Man vermeide eine die Infektion begünstigende hohe Luftfeuchtigkeit durch gute Lüftung, nicht zu enges Pflanzen und mäßige Bewässerung. Da erfahrungsgemäß der Tomatenkrebs im Freiland im allgemeinen erst im Spätsommer auftritt, muß man auf frühzeitiges Auspflanzen bedacht sein. Aus diesem Grunde zieht man z. B. am Vorgebirge bei Bonn Pflanzen im Winter im Gewächshaus heran und entnimmt von diesen Stecklinge, die nach ihrer Bewurzelung in Töpfen mit Ballen ausgepflanzt werden. Der Vorteil dieser Anzuchtweise besteht darin, daß die Stecklingpflanzen gegenüber den Sämlingen weit früher blühen und fruchten, also bereits einen Ertrag bringen, ehe die höchste Gefahr einer Totalinfektion eintritt. Zur Vermeidung einer Infektion behandelt man die Jungpflanzen in Abständen von 8 bis 14 Tagen am besten mit 0,25 %iger Uspulunlösung.

In den Tomatenkulturen sind alle als Überträger von *Didymella lycopersici* in Frage kommenden Solanaceenunkräuter (vgl. S. 30), zu entfernen.

Da der Parasit auf der von ihm befallenen Pflanze äußerlich erst in Erscheinung tritt, wenn er das Innere der Pflanze weitgehend zerstört hat, ist eine Rettung der befallenen Pflanzen nicht möglich. Deshalb bleibt nichts anderes übrig, als die erkrankten Tomaten sofort zu beseitigen und zu verbrennen, um eine Weiterverbreitung der im günstigsten Fall schon nach 13 Tagen entwickelten Pycnosporen zu verhindern.

Die Anregung zu vorliegender Arbeit verdanke ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. E. Schaffnit, dem Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Landwirtschaftlichen Hochschule Bonn-Poppelsdorf. Für die tatkräftige Förderung, die er meinen Untersuchungen hat zuteil werden lassen, bin ich ihm zu großem Danke verpflichtet.

Herrn Professor Dr. H. Fitting, dem Direktor des Botanischen Instituts der Universität, möchte ich für Überlassung von Apparatur meinen besonderen Dank aussprechen. Ebenso danke ich Herrn Dr. Lüdtke für Unterstützung bei der Ausführung meiner Arbeit.

Literatur.

1 Ehrlich, F., Über die Chemie des Pektins und seine Beziehung zur Bildung der Inkrusten der Zellulose. Zeitschrift Cellulosechemie XI. 8. 1930.

2 Esmarch, F., Der Tomatenkrebs. Die kranke Pflanze, 7. 149. 1925.

3 Hahmann, C., Versuche über die Bekämpfung des Tomatenkrebses. Zeitschrift für Obst- und Gemüsebau. **1**. S. 18, 1929.

4 Hagedorn-Jensen. Peter Rona. Praktikum der physiologischen Chemie. Erster Teil. Berlin, Julius Springer. S. 153—154. 1926.

5 Heinsen, E., Das Auftreten und die Verbreitung des Tomatenkrebses bei Hamburg. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. **XXX**. 16. 1921.

6 Höstermann und Noak, Lehrbuch der pilzparasitären Krankheiten. Berlin, Parey 1923.

7 Hutchinson, C., Rangpur tobacco wilt. India Dept. Agr. Mem. Bact. Ser. 1. 67. 1913.

8 Klebahn, H., Der Pilz der Tomatenstengelkrankheit und seine Schlauchfruchtform. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. **31**. 1. 1921.

9 Ludwigs, K., Starkes Auftreten des Tomatenkrebses. Zeitschrift: Der Obst- und Gemüsebau. **21**. 324. 1927.

10 Lüstner, G., Der Tomatenkrebs. Zeitschrift: Der Obst- und Gemüsebau. **11**. 166. 1927.

11 Michaelis, L., Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration mit Indikatoren. Praktikum der physiologischen Chemie. Peter Rona. Erster Teil: Fermentmethoden. Springer, S. 60, 1926.

12 Naumann, K., Schädigungen der Tomatenpflanzen. Die kranke Pflanze. 1—4. 196. 1924/27.

13 Orton, W., The wilt disease of cotton and its control. U. S. Dept. Agr. Div. Veg. Path. Bul. 27, 16. 1900.

14 Rosen, H. R., Efforts to determine the means by which the cottonwilt fungus, Fusarium vasinfectum, induces wilting. Journal of Agricultural Research. **33**. 1143. 1926.

15 Rosenbaum-Sando: The American Journal of Botany. **7**. 78. 1920.

16 Schaffnit, E., Eiweißerdalkaliverbindungen als Zusatzstoffe für Bekämpfungsmittel zur Erhöhung des Haftvermögens. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. XXXI. 19. 1921.

17 Schaffnit, E., und Meyer-Hermann, K., Über den Einfluß der Bodenreaktion auf die Lebensweise von Pilzparasiten und das Verhalten ihrer Wirtspflanzen. Phytopathologische Zeitschrift. **II**. 2. 99.

18 Schaffnit, E., und Volk, A., Über den Einfluß der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Parasiten. Forschungen auf dem Gebiet der Pflanzenkrankheiten und der Immunität im Pflanzenreich. **3**. Teil. 1. 1927.

19 van Slyke, Peter Rona. Praktikum der physiologischen Chemie. Erster Teil Fermentmethoden. Berlin, Julius Springer. 1926. S. 246.

20 Small, T., A Disease of the Strawberry. 12 Annual Report. 38. 1926. A Disease of the Strawberry Plant. 13 Annual Report. 45. 1927. Experimental and Research Station, Turner's Hill. Cheshunt, Herts.

21 Smith, E. Wilt disease of cotton, watermelon and cowpea *(Neocosmospora nov. gen.)*. U. S. Dept. Agr. Div. Veg. Path. Bul. 17, 72. 1899.

22 Stewart, F., A bacterial disease of sweet corn. N. Y. State Agr. Expt. Sta. Bul. 130. 423. 1897.

23 Volk, A., und Tiemann, E., Zur Anatomie verschieden ernährter Pflanzen. Forschungen auf dem Gebiet der Pflanzenkrankheiten und der Immunität im Pflanzenreich. 3. Teil. 1. 1927.

24 Jamieson, C. O., Phoma destructiva, the cause of a fruit rot of the Tomato. Journ. Agr. Res. 4. 1915.

25 Brick, L., Die Schwarzfleckenkrankheit der Tomatenfrüchte durch *Phoma destructiva* Plowr. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten 29, 1919.

26 Petrak, F., Über die Schwarzfäule der Tomaten. Ann. Mycol. 19, 1921.

Gibt es eine selektive Wirkung der Wirtspflanze (Weizen) auf den Pilz (Ustilago)?

Von

Th. Roemer und H. Kamlah, Halle a. d. S.

Das Vorhandensein von physiologischen Rassen bei den einzelnen Krankheitserregern ist bekannt. Sobald intensiv und mit geeigneten Methoden nach Rassen gesucht wird, finden wir sie bei allen Krankheitserregern. Die Tatsache, daß bisher weder bei *Synchitrium endobioticum* noch bei *Phytophthora infestans* physiologische Rassen gefunden worden sind, ist zu vermerken, kann jedoch nicht Anlaß zu Zweifeln an der Richtigkeit unserer Anschauung sein. Wir wissen, daß die einzelnen Sorten der Wirtspflanze sich gegenüber den physiologischen Rassen der Krankheitserreger verschieden verhalten, sowohl die Sorten des Testsortiments, mit denen wir die physiologischen Rassen zu unterscheiden vermögen als auch die vielen Sorten, die außerhalb des Testsortiments stehen. Geringer sind jedoch unsere Kenntnisse über die Einwirkung der Wirtspflanze auf den Krankheitserreger. Die vorliegenden Versuche zeigen deutlich, daß die Wirtspflanze Weizen das physiologische Verhalten von *Ustilago tritici* verändert. Die Wirtspflanze übt eine Selektion zwischen den physiologischen Rassen des Pilzes aus. Die natürlichen Zuchten sind niemals rein. Alle Produkte der natürlichen Auslese sind Mischungen, sind Populationen, sowohl bei den höheren als bei den niederen Pflanzen und damit auch in der Gruppe der Krankheitserreger. „Reine Linien", einheitliche „Biotypen", reine „physiologische Rassen" sind stets das Produkt der Selektionsarbeit durch den Menschen. Nur durch Infektion mit Einzelsporen oder mit Myzel, welches in künstlicher Kultur aus einer Einzelspore gezogen worden ist, kann eine reine Wirtssorte mit einer „reinen" einheitlichen physiologischen Rasse des Erregers infiziert werden. In allen anderen Fällen wird mit Populationen des Krankheitserregers infiziert, deren Zusammensetzung wir natürlich im voraus nicht kennen und erkennen können. Wissen wir doch nicht, ob außer den schon erkannten und festgestellten physiologischen Rassen nicht noch andere unerkannte physiologische Rassen existieren und in solchen „Herkunft"-Populationen enthalten sind.

Werden die Wirtspflanzen mit Gemisch, mit Populationen des Krankheitserregers infiziert, so sind zweierlei Möglichkeiten gegeben:

1. Entweder die Mischung bleibt unverändert, alle in der Population enthaltenen Biotypen gedeihen gleichmäßig gut auf der Wirtspflanze und kommen in relativ gleichem Ausmaß zum Fruktifizieren. Bei Fortsetzung durch mehrere Jahrgänge wird das Infektionsmaterial noch das gleiche sein wie zu Anfang.

2. Oder die in der Population steckenden physiologischen Rassen des Pilzes finden nicht alle in gleichem Maße ihre Vegetationsbedingungen, sie gedeihen teils gut, teils weniger gut, teils schlecht. Erstere wachsen in der Wirtspflanze rascher als letztere, erstere gelangen zur Fruktifikation, letztere nicht. Die Symbiose von Pilz und Wirtspflanze verläuft dann für einzelne physiologische Rassen des Pilzes günstiger als für die anderen. Dies muß zur Folge haben, daß die Zusammensetzung der Population, mit welcher infiziert wurde, schon nach einmaliger Passage durch die Wirtspflanze verändert worden ist. Wird der Vorgang mehrere Jahre hintereinander wiederholt, so muß sich diese Wirkung der Wirtspflanze auf die Zusammensetzung der Population des Krankheitserregers verstärken; die Zahl der in der Population noch enthaltenen physiologischen Rassen des Pilzes muß geringer werden. Die auf der Wirtssorte nicht gedeihenden physiologischen Rassen verschwinden mehr und mehr, die auf ihr gut gedeihenden Rassen erhalten die Oberhand. Bis zur völligen „Reinheit", d. h. bis zur völligen Veränderuug der Population in eine reine Linie, in eine physiologische Rasse des Pilzes wird es nicht kommen, weil wir mit Recht der Ansicht sind, daß die Natur niemals rein züchtet. Aber der Mittelwert der Population wird verschoben, ebenso wie die Selektion mehrerer Linien aus einer Population von Weizen oder Gerste oder irgend einer anderen selbstbefruchtenden Kulturpflanze den Mittelwert der neuen, aus wenigen reinen Linien bestehenden Populationen gegenüber der Ausgangspopulation verschiebt. Diese Verschiebung des Mittelwertes der Pilzpopulation können wir erkennen in den Ergebnissen der künstlichen Infektionen, dagegen können wir vorerst nicht feststellen, wieviele physiologische Rassen zu Beginn der mehrjährigen Passage durch die Wirtssorten enthalten waren, wieviele physiologische Rassen ausgeschieden worden sind und aus wieviel physiologischen Rassen die Population nach Beendigung der mehrjährigen Passage noch besteht. Dazu wären Analysen der Pilzpopulationen zu Beginn und am Ende der Versuche durch zahlreiche Einzelsporeninfektionen nötig. Eine solche Analyse ist daher nur durchzuführen mit einem Pilz, der in Einzelsporen- oder Einzelmyzelinfektionen vermehrt werden kann.

Aber auch dann bleibt immer noch die Frage offen, ob nicht auf Grund des heterozygoten Charakters des zur Infektion benutzten Myzels durch Mendelaufspaltung neue physiologische Rassen aus diesem Einzel-

myzel entstehen bzw. entstanden sind oder, falls Geschlechtsvorgänge nicht bekannt sind, mutative Änderungen des Pilzes sich vollziehen bzw. vollzogen haben.

Das vorliegende Material ist eine Fortsetzung der Arbeit Grevels über *Ustilago tritici*, welche in dieser Zeitschrift veröffentlicht wurde.[1]) Die wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit seien als Ausgangspunkt für die folgenden Versuche 1930 und 1931 kurz wiedergegeben. Grevel fand:

Rasse 1 den „allgemeinen deutschen Flugbrand“. Er befällt die Sorten Grüne Dame und Peragis nicht, dagegen in steigendem Maße die Sorten: Heines Kolben, Hohenheimer 25 f und Rimpaus roter Schlanstedter. Er besitzt in Deutschland die größte Verbreitung.

Rasse 2 „Flugbrand der Sortengruppe Grüne Dame“. Er befällt Grüne Dame und Peragis sehr stark, dagegen nur mäßig oder gar nicht die Sorten Hohenheimer 25 f und Rimpaus roter Schlanstedter. Er wurde zuerst im Unstruttal gefunden; er verbreitet sich jetzt durch die Ausdehnung des Anbaues von Peragis-Sommerweizen.

Rasse 3 der „Flugbrand des Stammes 368/20“. Er befällt sowohl die Sorten Grüne Dame und Peragis als auch Hohenheimer 25 f und Rimpaus roter Schlanstedter in sehr hohem Maße.

Allen 3 Rassen ist der mittlere Befall von Heines Kolben gemeinsam. (Arbeit Grevel S. 222.)

Weiterhin stellte Grevel fest, daß die Wirtssorte einen deutlichen Einfluß auf das Verhalten des Pilzes ausübt (S. 222 ff). In dem 4. Abschnitt seiner Arbeit (S. 228 ff.) konnte er nachweisen, daß durch Kreuzungszüchtung neue Weizenstämme erhalten werden können, die gegen mehrere der oben erwähnten Rassen des Flugbrandes widerstandsfähig sind.

Die Versuche von Grevel wurden in den Jahren 1930 und 31 fortgeführt. Diese Versuche zerfallen in zwei Teile: 1. sollte der Einfluß der Wirtssorte auf das Verhalten des Pilzes geprüft werden; 2. sollte die schon von Grevel mitgeteilte hohe Widerstandsfähigkeit von zwei Kreuzungsstämmen gegen mehrere Rassen von *Ustilago* mit weiterem Material belegt werden. Die Infektionen wurden in der gleichen Weise durchgeführt, wie es von Grevel (S. 212—213) beschrieben worden ist. Je Sorte und Flugbrandherkunft kamen im Durchschnitt 100 Pflanzen zur Auszählung; alles zusammen 47 000 Pflanzen aus den Ernten 1930 und 1931.

1. Einfluß der Wirtssorte auf die Virulenz verschiedener Rassen des Weizenflugbrandes.

Zu diesen Versuchen wurde der Flugbrand aus Halle und drei Herkünfte aus Kleinwanzleben benutzt. Der Flugbrand aus Halle gehört zu Rasse 1. Rasse 2 ist durch die beiden Herkünfte aus Peragis und der Linie 187 (beide aus Kleinwanzleben) vertreten. Der Flugbrand aus 368/20 ist der virulenteste Typ, der bisher in Deutschland gefunden wurde; er

[1]) Untersuchungen über das Vorhandensein biolog. Rassen des Flugbrandes des Weizens. Phytopath. Ztschr. 2, 209, 1930.

wird in seiner Pathenogenität nur von den Herkünften aus Uruguay und Argentinien erreicht; er gehört zur Rasse 3. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Das hierzu gehörige Versuchsmaterial der Tabelle 1 umfaßt ein Material von 24000 Pflanzen. Die Anordnung der Tabelle ist folgende: Spalte 1 gibt die ursprüngliche Herkunft und die Wirtssorte 1927 an. Spalte 2 enthält die Vermehrungssorten aus dem Jahre 1928. Mit diesen Vermehrungen wurde im Jahre 1929 der in den Spalten 3 bis 7 angegebene Befall erzielt. Die Angaben aus den Spalten 1 bis 7 stammen aus der Arbeit Grevel (s. d. Tabelle 3, S. 225). 1929 wurde Flugbrand von den in Spalte 8 aufgeführten Sorten zu den Blüteninfektionen benutzt und dadurch 1930 der in den Spalten 9 bis 13 angegebene Befall hervorgerufen. Das Gleiche gilt von den Spalten 14 und 15 bis 19 für die Jahre 1930 (Infektionsjahr) und 1931 (Befallsjahr).

Der Flugbrand aus Halle (lfd. Nr. 1) Rasse 1 zeigt das aus der Arbeit bekannte Verhalten: Grüne Dame und Peragis werden nicht befallen. Heines Kolben hat mittleren Befall, der sich zum größten Teil aus nur teilweise befallenen Pflanzen zusammensetzt. Es folgen Hohenheimer 25f und Rimpaus roter Schlanstedter, bei denen fast ausschließlich ganz verbrandete Pflanzen zu finden sind. In allen Jahren ist Hohenheimer 25f etwas weniger befallen als Rimpaus roter Schlanstedter.

Die Herkunft Kleinwanzleben Rasse 2 aus der Sorte Peragis wurde von Grevel im Jahre 1928 von den drei Wirtssorten Peragis, Heines Kolben, Rimpaus roter Schlanstedter getrennt geerntet. Im Jahre 1929 zeigten die Vermehrungen aus Peragis und Heines Kolben das gleiche Befallsbild: Grüne Dame und Peragis waren stark und Heines Kolben mittelmäßig befallen, dagegen Hohenheimer 25f und Rimpaus roter Schlanstedter entweder gar nicht oder nur ganz schwach befallen (Spalte 3 bis 7, lfd, Nr. 2 und 5). Völlig umgekehrt wurde dieses Ergebnis nach der Vermehrung des gleichen Flugbrandes auf Rimpaus rotem Schlanstedter. Grüne Dame und Peragis zeigten keinen Befall, Heines Kolben behielt seine Mittelstellung, während Hohenheimer 25f stark und Rimpaus roter Schlanstedter sogar zu 100% verbrandet waren (Spalte 3 bis 7, lfd. Nr. 7). Damit zeigte die Vermehrung aus Rimpaus rotem Schlanstedter das gleiche Verhalten wie der oben beschriebene Flugbrand aus Halle (Rasse 1).

Diese Ergebnisse von Grevel werden durch die Fortsetzung der Versuche durchaus bestätigt: Der Flugbrand, der ohne Unterbrechung auf Grüne Dame bzw. Peragis vermehrt worden ist, ruft immer einen starken Befall dieser beiden Sorten hervor, während er eine Pathenogenität auf Hohenheimer 25f oder Rimpaus rotem Schlanstedter entweder gar nicht oder in nur sehr geringem Maße besitzt (Spalte 9 bis 13, lfd. N. 2, 3, 5, 6; Sp. 15 bis 19, lfd. Nr. 3, 6). In dem mittleren Befall von Heines Kolben tritt keine nennenswerte Veränderung ein. Wird aber der ursprünglich aus Peragis stammende Flugbrand (Rasse 2) zweimal auf Rimpaus rotem

Tabelle 1.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
Herkunft und Wirtssorte 1927	Wirtssorte 1928	Befall in % 1929					Wirtssorte 1929	Befall in % 1930					Wirtssorte 1930	Befall in % 1931					Laufende Nr.
		Grüne Dame	Peragis	Heines Kolben	Hohenheimer 25 f.	Rimp. rt. Schlanst.		Grüne Dame	Peragis	Heines Kolben	Hohenheimer 25 f.	Rimp. rt. Schlanst.		Grüne Dame	Peragis	Heines Kolben	Hohenheimer 25 f.	Rimp. rt. Schlanst.	
Halle (Rimp. rt. Schlanst.)	Rimp. rt. Schlanst.	0,0	0,0	25,8	40,5	87,2	Rimp. rt. Schlanst.	0,0	0,0	13,4	51,6	79,8	Rimp. rt. Schlanst.	0,0	0,0	7,8	57,8	63,4	1
Kleinwanzleben aus Peragis	Peragis	85,0	76,9	10,0	2,7	0,0	Grüne Dame	65,4	52,7	5,0	11,9	14,8							2
	"						Peragis	86,3	93,5	33,0	0,0	3,0	Peragis	61,0	52,3	24,8	0,0	0,0	3
	"						"						Rimp. rt. Schlanst.	0,4	2,1	7,5	51,9	63,4	4
	Heines Kolben	74,4	70,2	19,7	0,0	3,3	Grüne Dame	51,3	71,5	21,8	0,0	0,0							5
	"						Peragis	76,4	80,8	12,0	0,0	5,5	Peragis	53,0	61,4	3,2	0,0	1,8	6
	Rimp. rt. Schlanst.	0,0	0,0	18,1	58,4	100	Rimp. rt. Schlanst.	1,4	3,2	4,1	69,0	71,0	"	39,1	31,4	5,6	12,5	22,3	7
	"						"						Rimp. rt. Schlanst.	0,0	0,0	1,4	41,8	64,9	8
Kleinwanzleben aus Linie 187	Peragis	85,0	41,6	0,0	2,0	16,1	Grüne Dame	40,0	66,2	7,5	0,0	0,0							9
	"						Peragis	85,8	73,2	18,4	0,0	2,0	Peragis	89,0	64,0	0,0	0,0	0,0	10
	"						"						Heines Kolben	67,1	56,8	0,0	3,6	0,0	11
	"						"						Rimp. rt. Schlanst.	0,0	0,0	0,0	53,1	72,4	12
	"						Rimp rt. Schlanst.	5,3	0,0	0,0	67.4	87,0	"	0,0	0,0	2,4	61,8	79,5	13
	Rimp. rt. Schlanst.	81,8	47,1	31,4	25,6	96,9	Grüne Dame	75,5	84,6	12,7	13,4	17,7							14
	"						Peragis	63,1	52,1	29,5	18,3	23,6	Peragis	69,7	71,3	13,4	3,4	5,6	15
	"						"						Rimp. rt. Schlanst.	5,3	8,1	8,7	64,5	69,1	16
	"						Rimp. rt. Schlanst.	7,9	4,3	0,0	47,5	71,0	Peragis	33,4	31,2	0,0	8,9	19,3	17
	"						"						Rimp. rt. Schlanst.	0,0	0,0	0,0	53,6	77,4	18
Kleinwanzleben aus 368/20	Peragis	90,1	72,6	17,3	51,8	97,6	Grüne Dame	88,3	72,5	59,7	67,8	72,5							19
	"						Peragis	79,8	41,9	21,0	64,3	94,8	Peragis	46,6	52,9	23,7	39,6	54,3	20
	"						"						Heines Kolben	56,3	47,3	29,5	81,6	73,2	21
	"						"						Rimp. rt. Schlanst.	0,0	0,0	0,0	71,2	52,8	22
	"						Rimp. rt. Schlanst.	86,7	69,2	16,7	52,8	68,9	Peragis	53,2	59,2	28,8	46,6	51,0	23
	"						"						Heines Kolben	59,5	53,2	32,9	46,4	47,8	24
	"						"						Rimp. rt. Schlanst.	6,1	8,0	12,4	59,4	88,6	25
	Heines Kolben	88,4	79,0	22,2	8,9	35,5	Grüne Dame	89,9	82,1	16,7	41,9	36,8							26
	"						Peragis	59,8	80,2	46,0	31,4	39,7	Peragis	71,5	56,6	4,6	36,4	44,5	27
	"						"						Heines Kolben	53,3	80,6	10,2	40,0	44,8	28
	"						Rimp. rt. Schlanst.	68,8	45,2	20,0	57,5	72,7	Peragis	44,5	51,2	19,6	39,7	40,9	29
	"						"						Heines Kolben	69,8	56,2	41,0	43,5	33,4	30
	"						"						Rimp. rt. Schlanst.	2,6	0,0	4,3	81,1	64,5	31
	Rimp. rt. Schlanst	72,7	51,5	35,7	44,4	—	Grüne Dame	96,3	80,0	22,0	55,1	67,8							32
	"						Peragis	94,0	82,8	41,3	59,2	63,0	Peragis	63,7	58,1	10,9	31,8	47,6	33
	"						"						Heines Kolben	61,0	67,3	22,1	41,9	49,3	34
	"						"						Rimp. rt. Schlanst.	3,1	4,8	17,3	58,6	71,3	35

Schlanstedter und dann auf Peragis vermehrt (Sp. 15 bis 19, lfd. Nr. 7), so entsteht ein Flugbrand, der alle geprüften Sorten nur mäßig stark befällt. Der Befall ist zwar am höchsten bei den Sorten Grüne Dame und Peragis, wie das nach einer Vermehrung des Flugbrandes auf Peragis zu erwarten ist, jedoch bleibt er hinter den sonstigen Befallszahlen dieser beiden Sorten deutlich zurück. Andererseits zeigt Rimpaus roter Schlanstedter einen höheren Befall als er sonst mit Flugbrand aus Peragis einzutreten pflegt.

Gerade entgegengesetzt ist das Befallsbild, wenn der Peragis-Flugbrand auf Rimpaus rotem Schlanstedter vermehrt worden ist. Grüne Dame und Peragis sind gar nicht oder wenig befallen. Heines Kolben behält seine Mittelstellung, während Hohenheimer 25 f und Rimpaus roter Schlanstedter stark befallen werden. In allen Fällen, in denen eine Vermehrung auf Rimpaus rotem Schlanstedter vorgenommen wurde (Spalte 3 bis 7, lfd. Nr. 7, Spalte 9 bis 13, lfd. Nr. 7, und Spalte 15 bis 19, lfd. Nr. 4 und 8), ist diese Umkehr der Virulenz zu beobachten, und zwar wird die völlige Umkehrung schon durch einmalige Vermehrung auf Rimpaus rotem Schlanstedter bewirkt.

Der Flugbrand aus Linie 187 (Kleinwanzleben) wurde 1928 von Grevel auf den Sorten Peragis und Rimpaus rotem Schlanstedter getrennt geerntet. Der Flugbrand, der auf Grüne Dame und Peragis gewachsen war, verhält sich genau so, wie es oben für die Vermehrungen aus Grüne Dame und Peragis schon besprochen worden ist: einem hohen Befall von Grüne Dame und Peragis steht ein mittlerer Befall von Heines Kolben und ein sehr geringer oder auch ganz fehlender Befall der Sorten Hohenheimer 25 f und Rimpaus rotem Schlanstedter gegenüber. Die Vermehrungsfolge Rimpaus roter Schlanstedter—Rimpaus roter Schlanstedter—Peragis (Spalte 15 bis 19, lfd. Nr. 17) weicht auch hier in der gleichen Weise von den übrigen Vermehrungen auf Peragis ab, wie es für den gleichen Fall schon bei der vorherigen Flugbrandherkunft besprochen wurde (Spalte 15 bis 19, lfd. Nr. 7).

Der Flugbrand, der auf Rimpaus rotem Schlanstedter vermehrt wurde, zeigt in den Jahren 1930 und 1931 ein anderes Verhalten als 1929 (Grevel). Bei Grevel hatte dieser Flugbrand zwar eine deutliche Erhöhung des Befalls bei Rimpaus rotem Schlanstedter im Vergleich zu dem Flugbrand aus Peragis hervorgerufen, die Sorten Grüne Dame und Peragis hatten aber ebenfalls ihre hohe Anfälligkeit behalten (Spalte 3 bis 7, lfd. Nr. 14). Es war also hier ein Befallsbild entstanden, wie es sonst bei der Rasse 3 (s. u.) auftritt. Da eine Vermehrung des Flugbrandes auf der Linie 187 selbst nicht vorgenommen wurde, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden, ob der Flugbrand dieser Linie von dem gewöhnlichen Peragis-Flugbrand unterschieden ist und vielleicht eine Mittelstellung zwischen den Rassen 2 und 3 einnimmt. Auf jeden Fall geht aus den Ergebnissen

Tabelle 2.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Herkunft	Flugbrandrasse	Wirtssorte 1929 und 1930	Grüne Dame				Heines Kolben				Rimpaus roter Schlanstedter				9357—58—60₂₇ 13851₂₆				9493—94—95₂₇ 14019₂₆				Laufende Nummer
			1930		1931		1930		1931		1930		1931		1930		1931		1930		1931		
			kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	kranke Pflanzen %	von den kranken Pflanzen waren teilweise krank %	
Halle	1	Rimpaus rote Schlanstedter	0	—	0	—	13,4	92,1	7,8	100	79,8	2,3	63,4	5,1	0	—	0	—	0	—	0	—	1
Rumänien	1		0	—	0	—	14,1	95,4	7,8	80,9	91,4	3,0	77,7	2,1	0	—	0	—	0	—	0	—	2
Spanien	1		0	—	0	—	0	—	7,3	100	63,1	6,2	59,0	7,9	1,8	100	0	—	0	—	0	—	3
Italien (Perugia)	1		0	—	0	—	1,9	100	0	—	74,8	4,0	61,7	12,3	0	—	0	—	0	—	0	—	4
Finnland (Tikkurilassa)	1		9,7	83,3	14,6	90,0	12,4	87,3	28,7	71,6	70,0	7,8	51,2	6,1	3,9	94,1	0	—	6,1	100	2,3	100	5
Polen	1		0	—	0	—	21,9	64,7	3,8	100	91,4	2,9	63,9	7,9	0	—	0	—	0	—	0	—	6
Rußland (Saratow)	1		0	—	0	—	2,7	100	0	—	93,9	0	59,6	4,1	0	—	0	—	0	—	0	—	7
England (Cambridge)	1		0	—	0	—	0	—	8,3	93,4	82,6	3,5	54,7	5,8	0	—	0	—	0	—	0	—	8
U.S.A. (Minnesota)	1		0	—	0	—	27,3	67,3	38,6	79,6	70,9	5,8	58,7	10,1	0	—	0	—	3,3	100	0	—	9
Kanada (Ottawa)	1		0	—	1,9	100	0.7	100	0	—	74,1	9,0	61,0	19,6	21,9	91,6	3,4	100	0	—	0	—	10
Türkei (Arghana)	1		0	—	0	—	13,6	64,2	37,8	76,1	73,4	12,9	54,5	7,3	70,2	17,9	51,9	14,8	0	—	0	—	11
Klein-Wanzleben (Peragis)	2	Heines Kolben	86,3	1,2	61,0	3,4	33,0	95,3	24,8	89,7	3,0	100	0	—	4,6	100	0	—	0	—	0	—	12
Roßleben (Grüne Dame)	2	„ „	59,0	5,1	51,3	6,8	22,9	72,4	18,5	61,3	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	13
Türkei (Eskischehir)	2	„ „	41,6	27,3	54,9	17,8	9,8	91,7	27,5	88,6	13,9	73,1	19,8	64,5	3,4	100	0	—	0	—	0	—	14
Jugoslavien (Torga-Bacha)	2	„ „	46,3	21,6	32,4	41,1	6,7	100	21,8	73,4	9,2	100	0	—	0	—	0	—	0	—	4,6	100	15
Ungarn (Magyarowar)	2	„ „	57,8	7,1	63,9	2,3	39,6	71,8	44,7	74,3	13,7	91,0	20,4	83,9	0	—	3,9	100	5,8	100	0	—	16
Klein-Wanzleben (368_{20})	3	„ „	79,8	24,0	46,6	32,9	21,0	90,0	43,7	82,4	94,8	4,7	54,3	3,6	18,6	100	34,1	69,5	18,2	70	27,3	83,4	17
Uruguay	3	„ „	41,8	61,0	57,6	68,5	39,2	51,6	52,8	63,2	96,5	0	89,8	2,1	67,2	88,4	40,3	94,6	43,6	90,2	32,4	97,8	18
„	3	9357_{27}	64,2	51,5	57,1	53,1	48,9	61,5	29,9	48,6	88,8	2,3	70,0	4,6	44,5	81,6	38,8	89,7	37,0	92,4	26,4	64,9	19
„	3	9493_{27}	53,6	49,7	68,8	60,0	29,4	74,8	47,6	79,3	80,3	7,1	82,6	8,3	40,6	97,1	23,2	93,8	22,4	90,7	34,8	98,9	20
Argentinien	3	Heines Kolben	67,4	39,3	52,9	27,8	48,3	69,0	33,3	58,1	84,6	4,9	59,7	7,3	52,5	72,1	31,6	77,8	49,3	84,6	28,1	75,3	21
„	3	9357_{27}	42,0	64,9	21,8	58,2	19,9	83,9	32,8	91,6	88,3	8,6	71,7	3,1	41,3	84,2	68,0	64,1	27,1	89,0	12,0	91,6	22
„	3	9493_{27}	63,1	59,7	52,3	64,8	39,9	71,0	46,1	83,7	95,4	0	69,3	8,1	31,6	88,1	51,9	79,1	41,4	93,5	56,0	88,7	23

der Jahre 1930 und 1931 hervor, daß nach zweimaliger Vermehrung auf Rimpaus rotem Schlanstedter dieser Flugbrand in seinem Verhalten dem der Rasse 2 entpricht. In diesen Jahren ist die hohe Anfälligkeit der Sorten Grüne Dame und Peragis für den Flugbrand aus Rimpaus rotem Schlanstedter nicht mehr vorhanden. Sie sind entweder gar nicht oder nur sehr gering befallen (Spalte 9 bis 13, lfd. Nr. 13, 17, Spalte 15 bis 19, lfd. Nr. 12, 13, 16, 18).

Der Flugbrand aus dem Stamm 368/20 (Kleinwanzleben) war von Grevel als virulentester der deutschen Flugbrande erkannt worden (Rasse 3). Alle geprüften Sorten wurden von ihm stark befallen, mit Ausnahme von Heines Kolben, der auch gegen ihn seine Mittelstellung behauptete. Grevel erntete diesen Flugbrand von den Sorten Peragis, Heines Kolben und Rimpaus rotem Schlanstedter. Keine dieser drei Sorten hatte eine deutliche Änderung der Virulenz bewirken können (Spalte 3 bis 7, lfd. Nr. 19, 26, 32). Zwar war nach der Vermehrung auf Heines Kolben ein Rückgang des Befalls bei Hohenheimer 25 f und Rimpaus rotem Schlanstedter eingetreten, jedoch war dieser vor allem bei der letzteren Sorte nicht stark genug, um eine wirkliche Veränderung feststellen zu können.

Dieses Ergebnis von Grevel findet in den Befallszahlen des Jahres 1930 eine sehr gute Bestätigung. Keine der Sorten Grüne Dame, Peragis und Rimpaus roter Schlanstedter, die im Jahre 1929 zur Vermehrung benutzt wurden, haben eine Veränderung in der Virulenz hervorrufen können. Alle Sorten werden ziemlich stark befallen, nur Heines Kolben allein bleibt mittelmäßig anfällig[1]) (Spalte 9 bis 13, lfd. Nr. 19, 20, 23, 26, 27, 29, 32, 33). Die beiden Vermehrungen auf Grüne Dame und Peragis, die auf Heines Kolben zurückgehen (Spalte 9 bis 13, lfd. Nr. 26, 27), haben bei Rimpaus rotem Schlanstedter wiederum den geringsten Befall hervorgerufen, jedoch ist dieser auch hier nicht niedrig genug, um eine tatsächliche Veränderung erkennen zu lassen.

Die Vermehrungen aus dem Jahre 1930 haben, so weit sie auf die Sorten Peragis und Heines Kolben zurückgehen, ebenfalls keine Veränderung des Befallbildes im Jahre 1931 bewirkt. Zwar ist der Befall im allgemeinen geringer als in den vorhergehenden Jahren, jedoch ist dies mit großer Regelmäßigkeit bei allen Sorten der Fall. Solche Einflüsse der Jahreswitterung sind natürlich bei der Auswertung der Ergebnisse zu beachten. Die Sorten Grüne Dame, Peragis, Hohenheimer 25 f und Rimpaus roter Schlanstedter zeigen durchweg einen ziemlich gleichmäßig hohen Befall, während Heines Kolben auch hier wieder geringere Befallsprozente aufweist. Diesem Ergebnis stehen die Befallsprozente gegenüber, die mit Flugbrand aus Rimpaus rotem Schlanstedter erzielt worden sind

[1]) Ein Befall von 59,7 % bei Heines Kolben (Spalte 11, lfd. Nr. 19) ist noch als mittlerer Befall zu bezeichnen, da er zum größten Teil aus nur teilweise verbrandeten Pflanzen besteht (siehe Arbeit Grevel, S. 224).

(Spalte 15—19, lfd. Nr. 22, 25, 31, 35). Diese Sorte hat hier ihren starken, verändernden Einfluß, den wir schon bei den vorhergehenden Herkünften besprochen haben, wieder zur Geltung gebracht. Grüne Dame und Peragis sind wenig oder gar nicht befallen, dagegen Hohenheimer 25 f und Rimpaus roter Schlanstedter sehr stark. Aus dem virulenten Flugbrand des Stammes 368/20 (Rasse 3) ist durch zweimalige Vermehrung auf anderen Sorten (Peragis, Heines Kolben) mit nachfolgender Vermehrung auf Rimpaus rotem Schlanstedter ein „allgemeiner deutscher Flugbrand" (Rasse 1) geworden.

Wenn auch die besprochenen Ergebnisse noch nicht in allen Fällen eine völlige Klärung der untersuchten Fragen gebracht haben, so haben sich doch einige Tatsachen mit großer Deutlichkeit herausgeschält. Im Vergleich mit der Arbeit Grevel ist zunächst festzustellen, daß sich die drei von Grevel in Deutschland gefundenen Flugbrandrassen auch in unseren Versuchen als deutlich voneinander verschieden gezeigt haben. Dem allgemeinen deutschen Flugbrand aus Halle (Rasse 1) steht der Flugbrand aus Kleinwanzleben gegenüber, soweit er auf Peragis oder der Linie 187 gewachsen ist (Rasse 2). Von beiden unterscheidet sich der Flugbrand des Stammes 368/20 durch eine besondere Virulenz (Rasse 3).

Weiterhin wird die Feststellung von Grevel, daß der Wirtssorte ein großer selektiver Einfluß auf die Virulenz des Parasiten zukommt, durch die vorliegenden Versuche bestätigt und mit umfangreichem Material belegt. Eine besonders starke, selektive Wirkung besitzt die Sorte Rimpaus roter Schlanstedter. Die einmalige Passage durch Rimpaus roten Schlanstedter verändert die *Ustilago*-Population, die zuvor hohen Befall von Grüne Dame und Peragis einerseits und geringen Befall von Hohenheimer 25 f und Rimpaus rotem Schlanstedter ergab, in ihr Gegenteil: hohen Befall von Hohenheimer 25 f und Rimpaus roten Schlanstedter und niedrigen Befall von Grüne Dame und Peragis. Dagegen tritt bei der Sorte Heines Kolben eine Änderung des Befalls nicht ein.

Bei dem agressiven Flugbrand des Stammes 368/20 (Rasse 3) genügt eine einmalige Vermehrung auf Rimpaus rotem Schlanstedter nicht, um ihn in seiner starken Virulenz zu ändern. Erst wenn dieser Flugbrand zweimal auf Sorten wie Grüne Dame, Peragis, Heines Kolben und Rimpaus rotem Schlanstedter vermehrt worden ist, vermag Rimpaus roter Schlanstedter als 3. Vermehrungssorte seinen starken Einfluß auszuüben. In diesem Falle wird auch hier aus einem Flugbrand der Rasse 3 ein solcher der Rasse 1, d. h. der hohe Befall aller Sorten bleibt nur für Hohenheimer 25 f und Rimpaus roten Schlanstedter erhalten, während Grüne Dame und Peragis wenig befallen werden. Dagegen tritt bei Heines Kolben keine Veränderung ein.

Die Sorte Peragis ruft ebenfalls eine Veränderung der Virulenz der Rasse 3 hervor. Jedoch ist die Wirkung dieser Sorte bei weitem nicht so stark wie die von Rimpaus rotem Schlanstedter. Selbst dreimalige

Passage durch Peragis verändert den Charakter der Rasse 3 nicht (Sp. 15—19, lfd. Nr. 20). Ist Rasse 3 aber zweimal hintereinander auf Rimpaus rotem Schlanstedter gewachsen und dann auf Peragis vermehrt worden, so ruft sie eine Erhöhung des Befalls bei Grüne Dame und Peragis und eine Herabdrückung bei Hohenheimer 25 f und Rimpaus rotem Schlanstedter hervor. Beide Vorgänge sind jedoch nicht sehr stark, so daß alle Sorten auf einer mittleren Befallshöhe stehen bleiben.

Die Sorte Heines Kolben wird von allen bisher geprüften Flugbrandherkünften mäßig stark befallen. Sie ist also eine Sorte, an der Unterschiede zwischen verschiedenen Herkünften nicht erkannt werden können. Interessant ist, daß gerade diese Sorte in unseren Versuchen keine deutlich verändernde Wirkung auf die Virulenz aller benutzter verschiedener Flugbrandherkünfte auszuüben vermochte.

Diese Ergebnisse können wohl nur durch eine Selektionswirkung der Wirtspflanze gegenüber dem Pilz erklärt werden. Die Passage der Pilzpopulation durch die einheitliche Wirtssorte, die keine Population, sondern eine reine Linie darstellt, ist verbunden mit einer Veränderung der Population, des Mischungsverhältnisses der physiologischen Rassen, welche die Pilzpopulation zusammenstellen. In der Rasse 2 sind noch zu einem geringen Anteil Sporen der Rasse 1 enthalten, welche jedoch bei der Sorte Grüne Dame und Peragis schlechte Lebensbedingungen finden, deren Myzel daher langsam wachsend ins Hintertreffen kommt, zwar noch in einigen wenigen Blüten der Wirtspflanze zur Fruktifikation kommt, aber in der Gesamt-Sporenmenge doch nur einen kleinen Prozentsatz darstellt. Wird diese „Ernte“ an Ustilagosporen zur Infektion von Rimpaus rotem Schlanstedter benutzt, so erlangen diese wenigen Prozente wiederum günstige Lebensbedingungen, während die große Mehrzahl der Myzele, da sie zur Rasse 2 gehören, auf Rimpaus rotem Schlanstedter ungünstige Lebensbedingungen finden, langsamer wachsend teils garnicht, teils nur zu einer geringen Sporenbildung auf dieser Sorte gelangen. Die zuvor in zahlenmäßiger Minorität stehende Rasse 1 bekommt die zahlenmäßige Überlegenheit auf Grund der für ihre physiologische Umstellung besonders günstigen „Umweltfaktoren“, der Ernährung durch die Wirtssorte.

Bei solcher Vorstellung ist es auch erklärlich, wenn einmalige Passage noch keine Umstellung zur Folge hat, sondern erst mehrmalige Passage eine erkennbare Veränderung der Pilzpopulation herbeiführt. Dieses ist auf zweierlei Weise zu verstehen:

1. Wenn die zur Infektion benutzten Populationen zu 98 % aus Rasse 2 und zu 2 % aus Rasse 1 bestehen, so ist die zahlenmäßige Unterlegenheit so groß, daß einmalige Passage nicht mehr ausreicht, um der Rasse 1 zu einer zahlenmäßigen Überlegenheit zu verhelfen. Die einmalige Passage mag beispielsweise den Anteil der Rasse 1 von 2 % auf 25 % erhöhen, so bleibt diese Rasse in der Pilz-Population immer noch in der Minder-

zahl; erst die zweite Passage durch die Sorte Rimpaus roter Schlanstedter mag den Anteil der Rasse 1 beispielsweise auf 60 % und die dritte Passage auf 95 % erhöhen, während gleichzeitig die anderen Rassen (nicht nur die Rasse 2, sondern die Summe aller in der Population steckenden Rassen) von 98 % auf 75 %, auf 40 %, auf 5 % zurückgedrängt worden ist.

2. Die andere Möglichkeit ist die, daß die Population des Pilzes aus physiologischen Rassen zusammengesetzt ist, die sich zwar in ihrem physiologischen Verhalten zur Wirtspflanze unterscheiden, aber nicht sehr deutlich unterscheiden, sondern ähnlich, vielleicht sehr ähnlich, aber nicht gleich sind. Je schärfer sich die physiologischen Rassen in dem Verhalten zur Wirtssorte unterscheiden, desto deutlicher wird der Wirt selektionieren, je geringer die Unterschiede sind, desto geringer wird die Selektionswirkung der Passage sein. Dieser verwickelte physiologische Vorgang kann anschaulich grob der Wirkung von Sieben gegenübergestellt werden: das Sieb einer Saatreinigungsmaschine kann die Körner, die in ihrer Größe, Form und Gewicht stark verschieden sind, leicht und sicher trennen, dagegen wird die Siebwirkung unbefriedigend sein, je ähnlicher die Körner in Größe, Form und Gewicht sind. So „sieben" die Wirtssorten aus der zur Infektion benutzten Herkunft, die eine Population ist, sicher, scharf und rasch diejenigen physiologischen Rassen ab, die sich scharf unterscheiden, wie es z. B. die Rasse 1 und Rasse 2 sind. Die gleichen Wirtssorten vermögen aber aus einer anderen Herkunft, die sich aus ähnlichen physiologischen Rassen zusammensetzt, keine scharf unterscheidbaren Rassen enthält, keiner physiologischen Rasse zur Majorität zu verhelfen, keine erkennbare Selektionswirkung auszuüben. Dabei ist zu bemerken, daß solches Ausbleiben einer Selektionswirkung nicht für alle Wirtssorten gilt. Es ist sehr wohl möglich, daß die Sorte A aus der Pilzpopulation „Herkunft X" irgend welche physiologische Rassen nicht auszulesen vermag, daß aber die Sorte E die in der Herkunft X enthaltenen Pilzrassen zu trennen vermag. Dies hängt ganz und gar davon ab, wie die Wirtssorten und Pilzpopulationen physiologisch aufeinander abgestimmt sind. Jedenfalls darf das Ausbleiben einer Selektionswirkung durch eine bestimmte Wirtssorte nicht als Beweis dafür dienen, daß das zur Infektion benutzte Pilzmaterial „rein" sei, keine Population darstelle, sondern eine einzelne physiologische Rasse sei.

Man könnte die Ergebnisse auch so zu deuten versuchen: die physiologischen Rassen sind Modifikationen, sind Anpassungserscheinungen an die Wirtssorte. Die Rasse 2 wird durch Wachstum auf Rimpaus rotem Schlanstedter modifiziert, rein somatisch durch die Umweltbedingungen geändert. Es liegt gar keine Selektionswirkung vor, sondern nur eine modifikative Abänderung des Pilzes, die sofort auf der Sorte Peragis wieder aufhört. Eine solche Auslegung der Versuche halte ich nicht für

richtig. Wäre es richtig, so müßte die Rasse 3 in einfacher Passage durch Rimpaus roten Schlanstedter in Rasse 1 und andererseits die Rasse 3 durch eine Peragis-Passage in Rasse 2 „modifiziert" werden. Ferner spricht gegen diese Auffassung die Tatsache, daß bei anderen Krankheitserregern die physiologischen Rassen als genetisch bedingte Unterschiede, als Biotypen, als Genotypen des Pilzes erkannt sind, ja schon experimentell hergestellt worden sind.

2. Die Widerstandsfähigkeit von Kreuzungsstämmen gegen verschiedene Rassen des Weizenflugbrandes.

Wenn man den Umschlag von Rasse 1 in Rasse 2 oder umgekehrt, wie er hier experimentell ausgeführt worden ist, nicht als Selektionswirkung der Wirtssorte, sondern als Modifikation deutet, so wäre eine Immunitätszüchtung aussichtslos. Der tatsächliche Erfolg der Immunitätszüchtung spricht somit ebenfalls gegen diese Auffassung. Daher sollen im Folgenden noch Belege dafür vorgebracht werden, daß durch Kreuzung von Weizensorten Neukombinationen geschaffen werden können, welche gegen mehrere physiologische Rassen von Ustilago immun sind. *Ustilago tritici* paßt sich an diese Wirte nicht durch somatische Modifikation an.

Zu diesen Versuchen wurden benutzt: 1. die Stämme 9357/27, 9358/27, 9360/27, die auf die Elite 1385/26 zurückgehen und die aus der Kreuzung Grüne Dame × v. Rümkers Sommer-Dickkopf stammen; 2. die Stämme 9493/27, 9494/27 und 9495/27 aus der Elite 14019/26, die aus der Kreuzung Grüne Dame × Rimpaus roter Schlanstedter hervorgegangen sind. Gleichzeitig mit diesen Stämmen wurden die Sorten Grüne Dame, Heines Kolben und Rimpaus roter Schlanstedter geprüft. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt; dieses Material umfaßt 23000 Pflanzen. Die Flugbrandherkünfte sind derart geordnet, daß erst die Vertreter der Rasse 1 (lfd. Nr. 1 bis 11), dann die der Rasse 2 (lfd. Nr. 12 bis 16) und zum Schluß diejenigen der Rasse 3 (lfd. Nr. 17 bis 23) aufgeführt sind.

Ganz allgemein ist zu den Ergebnissen zu sagen, daß auch hier die Unterschiede zwischen den einzelnen Herkünften mit den Unterschieden, wie sie Grevel in seiner Arbeit festgestellt hat (siehe Tabelle 2, S. 219), weitgehend übereinstimmen. Wir konnten in unseren Versuchen genau die gleiche Eingruppierung der einzelnen Herkünfte in die drei Rassen vornehmen, wie das von Grevel geschehen ist.

Die geprüften Kreuzungsstämme sind als praktisch immun gegen den Flugbrand der Rasse 1 zu bezeichnen, besitzen somit die Eigenschaft der Muttersorte. Es tritt zwar in einigen Fällen ein geringer Befall auf, jedoch besteht dieser fast ausschließlich aus nur teilweise verbrandeten Pflanzen. Eine Ausnahme hiervon macht der Flugbrand aus Arghana (lfd. Nr. 11). Er ruft auf den Stämmen aus der

Kreuzung Grüne Dame × v. Rümkers Sommer-Dickkopf hohen Befall hervor. Auch Grevel mußte diese Erscheinung in seiner Arbeit feststellen. Dagegen bleiben die Stämme aus der Kreuzung Grüne Dame × Rimpaus roter Schlanstedter auch gegen diesen Flugbrand immun.

Aber das gleiche Verhalten wie gegen den Flugbrand der Rasse 1 zeigen die Stämme auch gegen den Flugbrand der Rasse 2, welche die Muttersorte befällt. Auch gegen diesen sind sie praktisch immun. Der geringe Befall, der in einigen Fällen auftritt, ist immer zu 100 % auf teilweise befallene Pflanzen zurückzuführen.

Der Flugbrand der Rasse 3 ruft auf den Kreuzungsstämmen einen mittleren Befall hervor, der etwa die Höhe wie bei Heines Kolben erreicht. Wie bei diesen sind aber in der Hauptsache nur teilweise verbrandete Pflanzen vorhanden. Auch die Vermehrung des Flugbrandes auf den Kreuzungsstämmen selbst (lfd. Nr. 19, 20, 22, 23) hat hieran nichts geändert.

Als Ergebnis dieser Versuche können wir folgendes feststellen: Es ist durch Kreuzungszüchtung gelungen, Sommerweizenstämme zu schaffen, die mit Immunität gegen den „deutschen Flugbrand" der Rasse 1 eine solche gegen den Flugbrand der Rasse 2 verbinden. Sie vereinigen also in sich die Eigenschaften der Sorte Grüne Dame und Peragis einerseits und der Bordeaux-Weizen andererseits. Außerdem besitzen sie für die Rasse 3 den virulentesten Weizen-Flugbrand, der bisher gefunden wurde, eine nur mittlere Anfälligkeit. Nach den bisherigen Versuchen müssen wir annehmen, daß der Flugbrand der Rasse 1 die bei weitem größte Verbreitung in Deutschland besitzt. Dafür spricht auch die praktische Erfahrung, wonach Grüne Dame und Peragis als sehr widerstandsfähig, Rimpaus roter Schlanstedter und mit ihm die anderen Bordeaux-Weizen als hoch anfällig zu bezeichnen sind. Eine Widerstandsfähigkeit gegen diesen Flugbrand muß daher als besonders wertvoll erscheinen. Gesellt sich zu dieser Widerstandsfähigkeit noch eine solche gegen den Flugbrand der Rasse 2 und eine nur mittlere Anfälligkeit gegen den Flugbrand der Rasse 3, so kann man ohne Übertreibung sagen, daß hier die Kombinationszüchtung einen sehr beachtenswerten Erfolg erzielt hat. Es ist damit der Beweis erbracht, daß 1. die Existenz verschiedener physiologischer Rassen eines Krankheitserregers uns nicht von der Immunitätszüchtung abhalten darf; 2. die Unterschiede im Verhalten von *Ustilago tritici* gegenüber den verschiedenen Weizensorten nicht somatische Modifikation des Myzels, sondern genetische Unterschiede der physiologischen Rassen von *Ustilago tritici* sind, ebenso wie genetische Unterschiede zwischen den Weizensorten gegenüber den Pilzen bestehen.

Aus dem botanischen Laboratorium der Bundesanstalt für Pflanzenschutz
Wien, II.

Über den Einfluß des jährlichen Witterungsverlaufes auf die Frequenz von Pflanzenkrankheiten.

Von

Robert Fischer.

Mit 7 Textabbildungen.

Zwischen Witterungsverlauf und dem Auftreten parasitärer und nicht parasitärer Krankheiten bestehen vielfach sehr enge Beziehungen. Wenngleich auch diese Zusammenhänge schon bei einer oberflächlichen Betrachtung auffallen und auch selbstverständlich sind, schien es mir dennoch von Interesse, dieselben auf Grund statistischer Beobachtungen präziser zu fassen.

Die hier verwerteten meteorologischen Daten sind den Wetterkarten und Monatsübersichtsblättern der Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik in Wien entnommen. Einige spezielle Angaben verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Regierungsrates Dr. Kofler der genannten Anstalt, wofür ich demselben auch hier meinen besten Dank zum Ausdruck bringen möchte.

Die Daten über das statistisch verarbeitete kranke Pflanzenmaterial sind durchwegs den Protokollen der Bundesanstalt für Pflanzenschutz entnommen und beziehen sich auf eingesandte Proben. Die in Frage kommenden Krankheiten sind zum größten Teile von Dr. Neumann und mir, zum Teil auch von Prof. Dr. Köck, bestimmt worden. Berücksichtigung fanden nur Kulturpflanzen; Obstkrankheiten bildeten das Hauptkontingent der Einsendungen.

Obzwar sich größere Witterungsschwankungen meist auch bei Gewächshaus- und Mistbeetpflanzen durch ein plötzliches Auftreten von Krankheiten auswirken, wurden diese hier dennoch nicht berücksichtigt, so daß sich also die Beobachtungen ausschließlich auf Freilandmaterial beschränken. Nicht berücksichtigt wurden des weiteren durchwegs sämtliche auf unterirdischen Organen auftretende Krankheiten sowie solche, die auf lokale Boden- und Düngungsverhältnisse zurückzuführen sind, da diese naturgemäß weniger mit den Witterungsverhältnissen in Zusammenhang stehen. Auch perennierende Krankheiten, wie stammbewohnende Hutpilze, *Nectria*, Moniliaschrumpffrüchte, Venturia-Grind u. a., konnten naturgemäß hier

nicht berücksichtigt werden. *Monilia* und *Venturia* wurde aber immer dann mit einbezogen, wenn es sich um Neuinfektionen handelte. Der Umstand, daß sämtliche Einsendungen der Pflanzenkrankheiten von vollständig unbeeinflußten Beobachtern, die untereinander in keinerlei Verbindung stehen, herrühren und sich meist nur auf die wichtigsten und auffälligsten Krankheitserscheinungen beziehen, scheint mir eine Gewähr für eine möglichst objektive Registrierung der Frequenz der Krankheiten innerhalb eines bestimmten Zeitabschnittes zu geben.

Fragestellung und Methode.

Der Gesichtswinkel, unter dem die Arbeit zustande kam, war folgender. In jeder Gegend werden nur solche Kulturpflanzen gezogen, die dortselbst erfahrungsgemäß gedeihen. Dieses Gedeihen hängt einerseits von den edaphischen, andererseits den klimatischen Ortsverhältnissen ab. Da nun die örtlichen edaphischen Verhältnisse gleich bleiben, die klimatischen hingegen insbesondere durch die Mittelwerte von Temperatur und Niederschlag charakterisiert sind, ist anzunehmen, daß sich stärkere Abweichungen von diesen Mittelwerten in einem ungünstigen Gesundheitszustand der Pflanzen zu erkennen geben müssen. Diese Beeinflussung kann nun entweder direkt bedingt werden, wie dies bei Hitze-, Trockenheits- und Frostschäden der Fall ist, oder indirekt dadurch, daß die betreffende Pflanze in ihrer Disposition gegen parasitäre Krankheiten im positiven oder negativen Sinne beeinflußt wird. Damit ist die Fragestellung eindeutig umgrenzt, sie lautet: Welche Beziehungen bestehen zwischen der Frequenz der Pflanzenkrankheiten und den Temperatur- und Niederschlagsabweichungen von den Monatsmitteln?

Bei den parasitären Krankheiten komplizieren sich die Verhältnisse allerdings insofern, als sich die Witterungseinflüsse sowohl bei der Wirtspflanze als auch beim Parasiten auswirken. So kann abnormal hohe Feuchtigkeit, die meist auch mit einer abnormal tiefen Temperatur einhergeht, die Disposition der Wirtspflanze für parasitäre Krankheiten erhöhen und gleichzeitig auch die Virulenz des Pilzes steigern. Als typisches Beispiel hierfür sei an *Botrytis cinerea* erinnert; gleiches gilt aber auch für viele andere Parasiten namentlich Schwächeparasiten, wie *Cladosporium*- und *Macrosporium*-Arten.

Um den Witterungscharakter der letzten fünf Jahre (1927—1931) im großen Umrisse zu charakterisieren, wurden die Abweichungen von den normalen Monatsmitteln für Temperatur und Niederschlag zu Diagrammen vereinigt. Sämtliche meteorologischen Angaben beziehen sich soweit nicht anders angegeben auf Wien (Hohe Warte). Da aus den Diagrammen die absoluten Werte der Monatsmittel nicht hervorgehen, sollen dieselben in der folgenden Tabelle angegeben werden.

	Temperatur Grade	Niederschlag in mm
Januar	— 1,7	42
Februar	— 0,2	26
März	+ 3,9	50
April	+ 9,4	59
Mai	+ 14,0	75
Juni	+ 17,7	79
Juli	+ 19,6	79
August	+ 18,8	65
September	+ 15,2	43
Oktober	+ 9,8	56
November	+ 3,5	35
Dezember	— 0,6	42
	+ 9,2 Jahresmittel	651 Jahressumme

Diese Normalwerte der Temperatur sind aus den Jahren 1851—1900, jene der Niederschläge aus den Jahren 1881—1900 errechnet. Die Temperaturmonatsmittel für die einzelnen Beobachtungsjahre (1927—1931) sind den Monatsübersichtsblättern der Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik entnommen, ebenso die Abweichungen von diesen Normalwerten; erstere ergeben sich als algebraische Summe des oben angegebenen Mittels und der aus den Diagrammen ersichtlichen monatlichen Abweichung. Ebenso können unter Berücksichtigung der Normalwerte die Niederschläge aus den Diagrammen für einen jeden Monat leicht berechnet werden. Auch hier wurden die Abweichungen den Monatsübersichtsblättern entnommen.

In den Diagrammen (Abb. 1—5) sind zwei Abscissen stark ausgezogen hervorgehoben; die untere gehört zu der Abweichungskurve der Temperatur (punktiert ausgezogen), die obere zu jener der Niederschläge (strichliert ausgezogen). Links am Rande ist die Ordinateneinteilung für die Temperatur verzeichnet, ein Teilstrich entspricht hierbei einer Abweichung von 1°; rechts am Rand werden die Abweichungswerte der Niederschläge angegeben, wobei eine Einheit 20 % Abweichung vom Normalwert entspricht. Die römischen Zahlen unterhalb der untersten Abscisse geben die Monate an. Auf diese Abscisse sind auch die Frequenzkurven der nicht parasitären und parasitären Krankheiten bezogen; erstere sind strichpunktiert, letztere voll ausgezogen. In beiden Fällen entspricht eine Ordinateneinheit 10 auf Grund der Einsendung festgestellten Krankheitsfällen.

Es mag vielleicht gewagt erscheinen, daß hier die aus dem gesamten Bundesgebiete von Oesterreich zur Untersuchung eingesandten Pflanzenkrankheiten zu einer einzigen Frequenzkurve vereinigt, mit den klimatischen Verhältnissen von Wien verglichen wurden. Eine Zählung hat jedoch ergeben, daß rund 80 % der eingesandten Muster aus Wien und Niederösterreich stammen, ganz abgesehen davon, daß sich größere Ab-

weichungen der Monatsmittel von Wien meist auch gleichsinnig in den übrigen Bundesgebieten bemerkbar machen. Dies zeigte z. B. der abnormal heiße Mai 1931, für welchen die folgenden Mittelabweichungen einiger Beobachtungsorte angegeben werden:

Mai 1931.

Unter 500 m Seehöhe	Temperatur-abweichung vom Mittel	Niederschlag % des Mittels	
Wien	**+3,9**	**15**	Niederösterreich
Retz	+3,6	13	"
Alland	+6,3	28	"
Krems	+3,7	30	"
St. Pölten	+4,7	16	"
Wr. Neustadt	+4,1	53	"
Reichersberg	+3,6	26	Oberösterreich
Linz-Urfahr	+5,1	17	"
Grein	+3,8	45	"
Kremsmünster	+4,2	44	"
Bad Ischl	+3,9	58	"
Salzburg	+3,7	65	Salzburg
Bregenz	+2,7	88	Vorarlberg
Feldkirch	+2,8	101	"
Klagenfurt	+2,2	47	Kärnten
St. Paul	+1,9	44	"
Bruck a. d. M.	+2,3	37	Steiermark
Graz	+2,7	60	"
Gleichenberg	+3,3	26	"
Oberschützen	+3,0	22	Burgenland
Durchschnitt	**+3,6**	**43**	
über 500 m: Innsbruck (582 m)	+3,5	27	Tirol
Zwettl (513 m)	+3,8	49	Niederösterreich

Die gleiche Rechnung habe ich für eine Reihe anderer extremer Monate gemacht und bin hierbei zu den gleichen Feststellungen gekommen. Daß der hier eingeschlagene Weg gangbar ist, beweist vor allem auch der Vergleich der meteorologischen Kurven mit den Frequenzkurven, die untereinander deutliche Zusammenhänge zeigen. Nähere Beziehungen zwischen den meteorologischen Faktoren und dem Auftreten bestimmter parasitärer Krankheiten lassen sich wohl nur in vereinzelten Fällen feststellen (vgl. letzten Abschnitt); dazu ist die Zahl der Einzelbeobachtungen zu gering und sind die meteorologischen Angaben zu roh. Hier könnten nur systematisch durchgeführte Beobachtungen über das zeitliche Auftreten der Krankheiten auf engem Raume, unter Hinzuziehung kleinklimatischer Untersuchungen, wie solche an der Biologischen Station in Lunz am See (N.Österr.) bereits im Gange sind, neue Aufschlüsse bringen.

Die hier statistisch bearbeiteten 5 Jahre (1927—1931) schienen für die mitgeteilten Untersuchungen besonders geeignet, weil in diese Zeit einige sehr extreme Monate fallen, von denen der kalte Februar 1929 und der heiße, trockene Mai 1931 besonders hervorgehoben sein mögen.

Charakterisierung der einzelnen Jahre.

1927 (vgl. Abb. 1).

Das Jahr 1927 zeichnete sich durch einen warmen Winter und Vorfrühling aus. Das Monatsmittel des Jänner lag um 3,7° über dem Normalwert, sank dann im Februar bis auf 0,6° über dem Normalwert, um im März abermals um 3,4° die Normaltemperatur zu überschreiten. Von da an erfolgte eine Abnahme der Monatsmittelwerte bis zum Mai, wobei dieser Monat um 0,7° zu kalt war. Zwischen 13. und 15. Mai wurden in einigen Gegenden stärkere Strahlfröste festgestellt. Die Zeit von Juni bis Oktober zeichnete sich durch eine ausgeglichene, wenig über den Mittelwerten

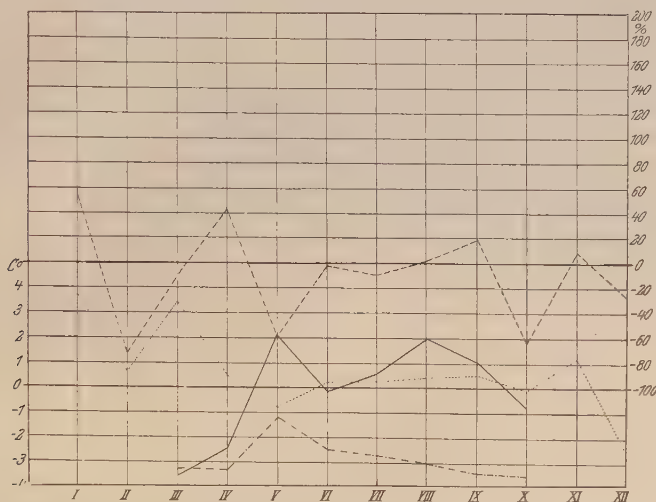


Abb. 1.
Jahresdiagramme 1927.

dieser Monate gelegene Temperatur aus. Die Niederschlagsmittel der Monate zeigten keine allzu extremen Abweichungen während der Vegetationszeit. Der April brachte um ca. 40 % zuviel, der Mai und Oktober um 60 % zu wenig Regen. Die Sommermonate hatten normale Niederschlagsmengen.

A. Nichtparasitäre Krankheiten waren in diesem Jahre nicht sonderlich häufig beobachtet worden. Die Frequenzkurve zeigte nur einen ziemlich flachen Gipfel im Mai, der auf die Einsendung mehrerer durch Spätfröste geschädigter Pflanzenteile (Blätter, Blüten, junge Obstfrüchte) zurückzuführen ist. Diese Schädigungen wurden durch die lokalen Strahlfröste am 14. und 15. Mai hervorgerufen, die insbesondere im Wiener Becken und dessen nördlischen Ausläufern beobachtet werden konnten

Ich hatte zufällig Gelegenheit diese Spätfrostschäden im nördlichsten Ausläufer des Wiener Tertiärbeckens zu studieren, da ich mich zu dieser Zeit einige Tage in Groß Seelowitz (Südmähren C. S. R.) aufhielt. Die

Nächte vom 13./14. und 14./15. waren vollkommen klar; schon vor Mitternacht lag die Temperatur zwischen 0° und —1°. Als Minimaltemperatur wurde an einem westseitig gelegenen Fensterthermometer an beiden Tagen —5° abgelesen. Aller Wahrscheinlichkeit nach war die Temperatur im freien Gelände und näher über dem Boden noch geringer.

Der durch diese Fröste angerichtete Schaden war im Beobachtungsgebiete recht erheblich, da die Vegetation infolge der warmen Witterung weit vorgeschritten war und der Kälteeinbruch ganz unvermittelt erfolgte. Aus meinen an Ort und Stelle gemachten Aufzeichnungen sollen hier einige Angaben wiedergegeben werden, die, obzwar aus dem eigentlichen Rahmen der Arbeit herausfallend, von allgemeinem Interesse sein dürften.

Vollständig erfroren waren: Blätter und Blüten von *Juglans regia*, die Blätter von freistehenden Weinstöcken, Blätter von *Ailanthus*, Blätter und Blüten von *Cytisus Laburnum* (die Blätter wurden schwarz, die Blüten weiß), Aprikosen (erbsengroße Früchte), Mais, Frühkartoffel stellenweise, einzelne Weichselbäume (besonders Früchte) stellenweise Äpfel (besonders Blüten) Blüten und Blütenknospen (vor dem Aufblühen) der Erdbeeren, Robinien (Blätter) und Eschen in vertieften Lagen.

Stark gelitten haben: Stachel- und Johannisbeeren, Wein an Hauswänden, Wintersalat (!), Luzerne in tiefen Lagen, besonders deren oberer Teil, Spinat, Rettig, Erbsen und teilweise Rosen.

Noch im Boden erfroren sind: Maiskeimlinge, Triebe von Kartoffeln und Dahlien.

Auffallend war, daß der teils in voller Blüte, teils im Verblühen begriffene Flieder nicht die geringste Schädigung zeigte und später auch normal fruchtete. — Auf der Bahnfahrt von Lundenburg nach Wien war bis nach Wien vom Zuge aus ein großer Teil der hier aufgezählten Frostschäden längs der Bahnstrecke sichtbar.

Unter den Einsendungen im Mai waren besonders Spätfrostschäden an Obstbäumen häufig, so gebräunte Blätter, Frostblasen an Apfelblättern, erfrorene Marillen u. a. In den Voralpen haben stellenweise besonders die Buchenbestände gelitten; die Schäden waren hier noch im Sommer an der eigentümlichen Verfärbung der Wälder zu erkennen.

Die Einsendung nichtparasitärer Krankheiten in den übrigen Monaten waren teils auf Nachwirkungen von Frostschäden, teils auf andere Außeneinflüsse zurückzuführen. Sie erlangten aber in keinem dieser Monate eine größere Zahl. Bemerkt seien noch die häufigeren Einsendungen von weißährigem Getreide (besonders Gerste) im Juni, welche Erscheinung ebenfalls auf die Spätfröste im Mai zurückzuführen war.

B. Parasitäre Krankheiten: Infolge der vorgeschrittenen Vegetation und der warmen, feuchten Witterung des Vorfrühlings traten parasitäre Krankheiten schon früher und in größerer Zahl als in den folgenden vier Jahren auf. Der Anstieg der parasitären Frequenzkurve

erfolgte im Mai geradezu sprunghaft. Der Gipfel im Mai ist auf *Exoascus deformans* (rund 30 %) der parasitären Einsendungen zurückzuführen, der, wie ich mich auch bei meinen Versuchsreisen und bei anderen Gelegenheiten wiederholt überzeugen konnte, in diesem Jahre überaus häufig auftrat. Neben *Exoascus* waren es besonders Erysiphaceen, die häufig zur Untersuchung eingesandt wurden.

Dem Maimaximum folgte ein Minimum im Juni, das in erster Linie auf das Nachlassen der Einsendungen von *Exoascus*, in zweiter Linie wohl auf die Nachwirkung der trockenen Maiwitterung zurückzuführen war. Dann erfolgte der normale Anstieg gegen das Spätsommermaximum (August: vgl. Durchschnittskurve), das, wie immer, nicht durch das häufige Auftreten von bestimmten Krankheiten — zum Unterschied vom Maimaximum 1927 — sondern durch das Auftreten einer größeren Artenzahl parasitärer Pilze zustande gekommen ist. Bemerkenswert war weiter das häufige Vorkommen von Getreidefußkrankheiten (*Ophiobolus* und *Leptosphaeria*) Ende Juni und Anfang Juli.

Zusammenfassung: Das Jahr 1927 ist infolge der ziemlich gleichmäßigen Niederschlagsverhältnisse und der gleichmäßigen Temperatur reich an parasitären, hingegen, wenn man von den Spätfrostschäden absieht, arm an nichtparasitären Krankheiten.

1928 (vgl. Abb. 2).

Waren die Witterungsverhältnisse des Jahres 1927 mehr oder weniger ausgeglichen, so zeichnete sich das Jahr 1928 durch die Schwankungen der Monatsmittel aus. Das Temperaturmittel der Monate März, Mai, Juni und September lag mehr oder weniger unter der normalen Monatstemperatur. Insbesondere der Mai war sehr kalt (2,2° unter der normalen Maitemperatur), wodurch ein Zurückbleiben der Vegetation bedingt wurde. Erfolgte die Weinblüte im Jahre 1927 bei Rheinriesling[1] in Nußdorf bei Wien am 11. Juni, so blühte die gleiche Sorte am selben Ort im Jahre 1928 erst am 21. Juni, also um 10 Tage später. Spätfröste wurden stellenweise in der Zeit zwischen 9. und 13. Mai verzeichnet. Die Wintermonate des Jahres hatten stark übernormale Monatstemperaturen, Juli und August waren sehr heiß und insbesondere der erstere wich um + 2,1° vom Normalwert ab und gab durch seine abnormale Trockenheit (der Niederschlag betrug nur 15 % vom normalen Mittelwert) Veranlassung zu Hitze- und Trockenheitsschäden; Mai und September waren dagegen sehr niederschlagsreich.

A. Nichtparasitäre Krankheiten: Die wenigen Einsendungen im März und April bezogen sich auf Winterfrostschäden an holzigen Pflanzenteilen. Im Mai erfolgte ein starker Anstieg in der Frequenz der

[1]) Die phänologischen Daten der Weinblüte verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Reg.-Rat Dr. Miestinger, wofür ich ihm bestens danke.

nicht parasitären Krankheiten, der vor allem auf Spätfrostschäden zurückzuführen war, zum geringeren Teil auf Schädigungen durch Winterfrost und andere nichtparasitäre Krankheiten, wie Gummifluß, Verbrennungen durch Pflanzenschutzmittel. Die Nachwirkungen der Spätfröste zeigten sich auch noch an den Einsendungen im Juli, sowohl an Obstbäumen, als auch an Getreide (Weißährigkeit, besonders an Roggen). Auffällig war im Juni die große Zahl von Einsendungen der durch Spritzmittel verbrannten Blätter. Diese Verbrennungserscheinungen, die auch bei den von unserer Anstalt durchgeführten Spritzversuchen in diesem Monate auffallend häufig waren, dürften mit einer stärkeren Taubildung, die eine Folge der starken

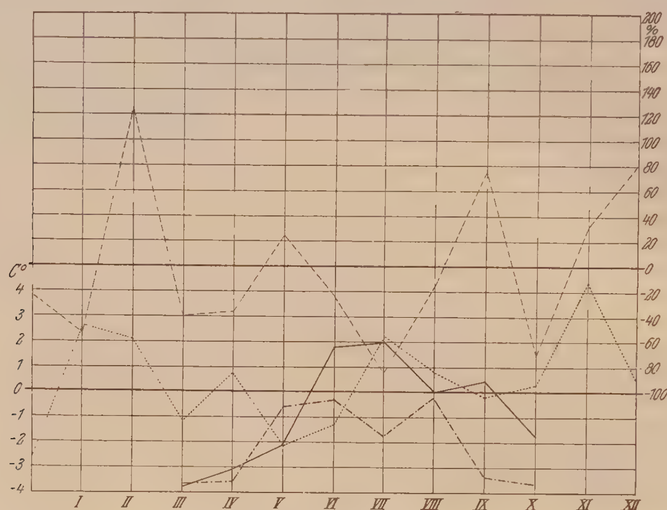


Abb. 2.
Jahresdiagramme 1928.

Schwankungen der Tagestemperaturen — es wurden trotz des tiefen Monatsmittels bei Tage bis zu 29° im Schatten gemessen — war, zusammenhängen. Dazu kommt die erhöhte Empfindlichkeit der durch den verspäteten Austrieb noch jugendlichen Blätter.

Das zweite Kurvenmaximum liegt im August und ist, ebenso wie die relativ vielen nichtparasitären Einsendungen im Juli, auf Hitze und Trockenheit im Juli zurückzuführen, die namentlich an Obstbäumen und Beerensträuchern Vertrocknungserscheinungen nach sich gezogen haben. Bemerkenswert war auch, daß in manchen Gegenden Niederösterreichs an verschiedenen Obstbaumarten (besonders Pflaume und Marille, seltener Apfel) bleiglanzartige Erscheinungen hervorgerufen wurden, die sicherlich nicht auf *Stereum purpureum* zurückzuführen waren, sondern auf Hitze und Trockenheit.

B. Parasitäre Krankheiten. Der kühle Frühling hemmte deutlich das Auftreten parasitärer Pilze, so daß im Mai nur etwa ein Drittel soviel Einsendungen mit parasitären Erkrankungen einliefen als

im vorangehenden Jahre. Im Juni erfolgte dann ein sprunghafter Anstieg der Frequenz. Hatten die Erysiphaceen im Jahre 1927 ihr Maximum im Mai, so war dasselbe im Jahre 1928 in den Juni verschoben. Auch die ersten Einsendungen von Exoascus deformans, der viel seltener war als im Vorjahre, erfolgten um einen Monat verspätet. Von Venturia befallene Apfel- und Birnenblätter liefen zahlreicher ein als in den übrigen vier Beobachtungsjahren; das Maximum wurde im Juli erreicht. Für das stärkere Auftreten der Krankheit dürften die bei den Verbrennungen durch Pflanzenschutzmittel besprochenen Ursachen verantwortlich zu machen sein. Die Zahl der Einsendungen stieg noch unwesentlich im Juli und fiel gegen den August um 30 %. Daß der August ganz gegen die Regel ärmer an parasitären Krankheiten war als der Juli, hängt ohne Zweifel mit einer Nachwirkung der Hitze und Trockenheit des Juli zusammen, die ein stärkeres Auftreten von Pilzen nicht aufkommen ließen. Die Zunahme der Feuchtigkeit im August und September veranlaßte neuerdings einen leichten Anstieg der parasitären Krankheiten im September, dem dann im Oktober der durch den Ablauf der Vegetation bedingte Abstieg folgte.

Zusammenfassung. Das Jahr 1928 steht deutlich unter dem Einfluß der verspäteten Vegetation und der Trockenheit im Juli. Spätfrostschäden sind sehr bedeutend. Im Juni sind Verbrennungen infolge von Pflanzenschutzmitteln häufig zu beobachten. Das Maximum der parasitischen Frequenzkurve liegt gegen die Regel nicht im August, sondern im Juli.

1929 (vgl. Abb. 3).

Der sibirische Winter bildet wohl das Hauptcharakteristikum des Jahres. Vom Jänner bis April war das Temperaturmonatsmittel weit unternormal. Insbesondere der Februar war überaus kalt (Monatsmittel um 9,6° unternormal), in Wien wurde am 11. II. eine Minimaltemperatur von —25,8°, in Retz —27°, Krems —24,6°, Hohenau —29,2°, Wiener Neustadt —32° und in Zwettl sogar —36,6° festgestellt. Der Winter war seit 1840/41 der strengste. Doch nicht überall waren die Temperaturen so tief wie in den genannten Orten Niederösterreichs. Sie waren in einzelnen Teilen Obersteiermarks, Salzburgs und Tirols wesentlich höher als in den nordöstlichen Teilen Niederösterreichs und des Burgenlandes, die der aus Nordosten zugeführten Kaltluft besonders stark ausgesetzt waren. — Der Temperaturausgleich begann erst im Mai, in welchem Monate die Normaltemperatur in Wien um 1,2° überschritten wurde. Im Juni erfolgte nochmals ein leichter Temperaturrückfall, dem ein allmähliches Ansteigen der Monatsmittelabweichungen gegen das Jahresende zu folgte.

Die Vegetation war infolge der kalten Witterung noch anfangs Mai sehr zurück, holte aber rasch auf, so daß der Winter fast unvermittelt

in den Sommer überging. In der zweiten Maihälfte war die Vegetation bereits normal und auch die Weinblüte erfolgte in Nußdorf schon am 9. VI., also wesentlich früher als 1928 und ungefähr zur gleichen Zeit wie nach dem warmen Winter 1927. Mit dem Zurückbleiben der Vegetation einerseits, der warmen Maiwitterung andererseits hing es wohl zusammen, daß Spätfrostschäden nicht zur Einsendung gelangten.

Die Niederschläge in der Zeit von Mai-Juni entsprachen ungefähr den Mittelwerten, dann erfolgte ein Abstieg, der im September seinen

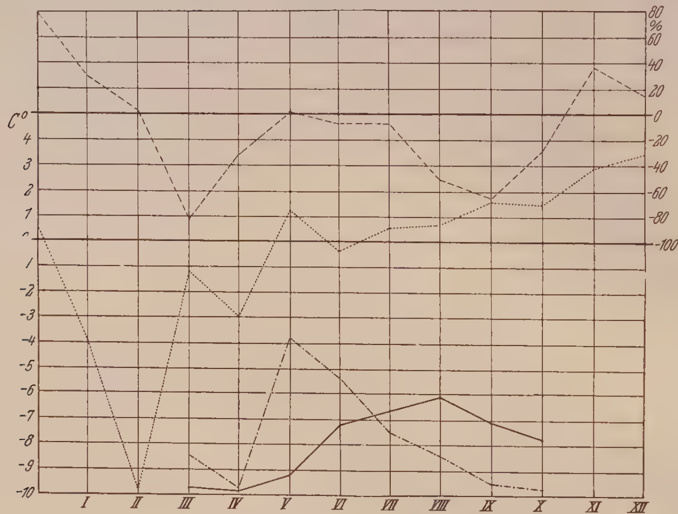


Abb. 3.
Jahresdiagramme 1929.

Tiefpunkt mit nur 35 % des Normalwertes erreichte, dem ein neuerlicher Aufstieg folgte.

A. Nichtparasitäre Krankheiten. Bereits im März langten relativ viele durch Frost geschädigte Pflanzenteile ein. Es handelte sich vorwiegend um Zweige und Äste, an denen die Winterfröste Risse, Frostblasen und -platten hervorgerufen hatten. Da zu den bereits vorhandenen Schäden keine neuen hinzugekommen waren, ließ die Einsendung solcher Muster im April nach. Erst im Mai machten sich weitere Frostschäden (indirekte Frostschäden) an Holzgewächsen, insbesondere Obstbäumen geltend (stärker beschädigte, insbesondere Walnuß, aber auch Stein- und Kernobst trieben vielfach überhaupt nicht mehr aus). Die meisten Frostschäden machten sich aber erst nach dem Austrieb in der zweiten Hälfte Mai und im Juni, ja selbst noch im Juli bemerkbar. Diese Schädigung war an allen Obstgattungen, namentlich an Aprikosen, Pfirsich und Birnen, teilweise auch an Wein und Apfel festzustellen und äußerte sich darin, daß die noch halb oder auch schon ganz entwickelten Blätter plötzlich welkten und vertrockneten. An Stamm- und Zweigquerschnitten konnte

man meist partielle Erfrierungen des Kambialgewebes feststellen. Bei den im Juni und Juli eingesandten Mustern solcher Art lag der Schaden in der Regel in den stärkeren Zweigen oder Ästen, während er bei den im Mai eingesandten in den jüngsten Zweigen nachzuweisen war, weswegen diese schon früher zum Abwelken gebracht wurden. Andere nichtparasitäre Krankheiten traten in diesem Jahre nicht sonderlich häufig auf. Hitzeschäden im Spätsommer hatten keine nennenswerte Höhe erreicht, da die Bedingungen hierzu nicht gegeben waren.

B. Parasitäre Krankheiten. Der Verlauf der Frequenzkurve der parasitären Krankheiten ist ziemlich normal, sie zeigt im August ein deutliches Maximum, setzt jedoch sehr flach an. Infolge der verspäteten Vegetation und der Winterkälte, die sich auch bei den Pilzen ausgewirkt hatten, erfolgten im Mai auffallend wenig Einsendungen. Auch in den Sommermonaten lag das Maximum erheblich tiefer als in den übrigen Beobachtungsjahren, so daß die Kurve sehr flach verläuft. Da während der Vegetationszeit die Witterungsverhältnisse dem Auftreten von parasitären Krankheiten, wie die Niederschlags- und Temperaturkurven zeigen, durchaus nicht ungünstig gewesen sein konnten, dürfte für dieses schwächere Auftreten der parasitischen Pilze, das auch gelegentlich bei Begehungen und Sammeltouren festgestellt werden konnte, die andauernd strenge Winterkälte verantwortlich zu machen sein. In vielen Fällen handelte es sich sicherlich nur um eine indirekte Einwirkung, insofern als den Pilzen durch die Fröste das Substrat entzogen worden war. Dies gilt insbesondere für die zweigbewohnenden Mehltaupilze, die seltener waren als in anderen Jahren; daß pilzbefallene Zweige leichter erfrieren, ist ja eine bekannte Tatsache. Noch auffälliger war das vollkommene Fehlen von *Exoascus deformans* im Einlauf. Wie Erkundigungen und eigene Beobachtungen ergeben haben, ist die Kräuselkrankheit tatsächlich überaus vereinzelt vorgekommen, auch dort, wo sie im Jahre 1927 verheerend aufgetreten war. Daß die von *Exoascus* infizierten Zweige zum allergrößten Teil erfroren waren oder der Pilz zum mindesten keine entsprechenden Lebensbedingungen vorgefunden hatte, ist aus diesen Beobachtungen mit Sicherheit zu schließen.

Ob die Winterkälte unmittelbar schädigend auf die Pilze gewirkt hat, darüber liegen mir keine Erfahrungen vor, für sehr wahrscheinlich halte ich eine solche Schädigung wegen der großen Widerstandsfähigkeit der Pilze gegen Kälte nicht; immerhin aber wäre es möglich, daß z. B. der Reifungsprozeß mancher Wintersporen infolge der andauernden Kälte hinausgeschoben wurde. Eine für das Jahr charakteristische parasitäre Erkrankung war der Schneeschimmel, der infolge der hohen, langewährenden Schneedecke in manchen Gegenden zur Auswinterung des Wintergetreides geführt hatte.

Zusammenfassung. Das Jahr 1929 ist charakterisiert durch die abnormale Winterkälte und ihre Folgen, die zum größten Teil erst nach

erfolgtem Laubaustrieb sichtbar wurden, sowie die relative Armut an parasitären Krankheiten, die durchweg in allen Monaten zu erkennen ist; besonders bemerkenswert ist das Fehlen von *Exoascus deformans* im Einlauf.

1930 (vgl. Abb. 4).

Vergleicht man die Temperaturkurve des Jahres 1930 mit jener des vorhergehenden Jahres, so hat man den Eindruck, daß jenes die Temperaturverhältnisse des Jahres 1929 wieder auszugleichen bestrebt war. Die Monatsmitteltemperaturen waren mit Ausnahme des Februar, Juli und August durchweg ziemlich stark übernormal und auch bei den genannten

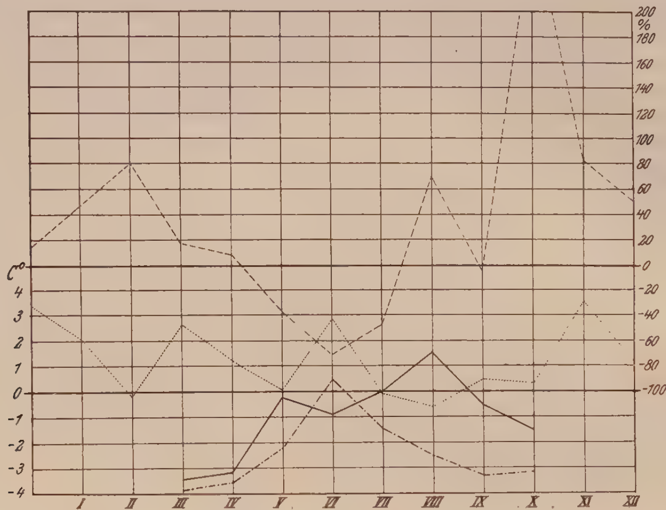


Abb. 4.
Jahresdiagramme 1930.

Monaten war die negative Abweichung nur sehr gering. Die Niederschläge lagen mit Ausnahme der Monate Mai, Juni und Juli über den Mittelwerten. Die größten Abweichungen von den Mittelwerten machten sich im Monat Juni geltend, hier ist das Temperaturmittel um 2,8° übernormal, während nur 28 % des normalen Niederschlages gefallen waren. Diese Extreme des Monats Juni beeinflußten das Auftreten der nichtparasitischen Krankheiten im positiven Sinne, das der parasitischen im negativen.

A. Nichtparasitäre Krankheiten. Obzwar die tiefste Wintertemperatur mit bloß — 10,6° angegeben wird, langten im März und April dennoch einige durch Winterfrost geschädigte Pflanzenteile (Zweige und Äste) ein. Ich muß dahingestellt sein lassen, ob diese Schädigungen auf Winterfröste des laufenden Jahres oder auf solche des Jahres 1929 zurückgingen, da diesbezüglich aus den Protokollen nichts hervorgeht. Wahrscheinlich aber erscheint mir, daß sie ebenso, wie das Absterben der ausgetriebenen Obstbäume, auf den vergangenen Winter zurückzuführen waren.

Diese Erscheinung des Absterbens trat im Krankheitsbild vollständig konform dem vorjährigen auf. Es scheint alle jene Bäume betroffen zu haben, die vom Winterfrost 1928/29 weniger geschädigt wurden als die bereits ganz oder teilweise im Jahre der Schädigung eingegangenen. Der seit der Frostschädigung erfolgte Zuwachs mag bedingt haben, daß die Nährstoffzufuhr infolge dieser Schädigung nicht mehr ausreichte.

Unmittelbar an diese Frostnachwirkungen schlossen sich Ende Juni und im Juli ähnliche Schäden an, die auf Hitze und Trockenheit zurückzuführen waren. Es ist sehr wahrscheinlich, daß es sich in vielen Fällen um eine kombinierte Wirkung von alten Frostschäden mit Trockenheits- und Hitzeschäden gehandelt hat. In anderen Fällen konnte aber eine ausschließliche Schädigung durch Hitze und Trockenheit erwiesen werden. Im August klingen diese Schäden mit den zunehmenden Niederschlägen und der Temperaturabnahme allmählich gegen den Herbst ab. Als Folge der Winterfröste 1928/29 können auch die häufigeren Einsendungen von Gummifluß betrachtet werden.

B. Parasitäre Krankheiten. Der warme Vorfrühling und das durch denselben bedingte Vorauseilen der Vegetation verursachte ähnlich dem Jahre 1927, ein zeitiges Auftreten von parasitären Krankheiten. Im Mai langten etwa ebensoviele von Parasiten befallene Pflanzenmuster ein, wie im Jahre 1927, exklusive der damals so häufigen Pfirsichkräuselkrankheit, die trotz des warmen Frühjahrs nicht häufiger auftrat als sonst. Auf das Maimaximnm folgte ein Juniminimum, das sichtlich mit der Trockenheit und Hitze dieses Monates im Zusammenhange steht. Mit den zunehmenden Niederschlägen im Juli und August ging auch eine Zunahme der parasitären Krankheiten Hand in Hand, die im August ihren Höhepunkt erreichen und von hier dann, wie alljährlich, gegen das Ende der Vegetationszeit abnehmen. Die Ähnlichkeit der Frequenzkurve mit der entsprechenden Kurve vom Jahre 1927 ist sehr groß.

Als bemerkenswert sei das starke Auftreten von *Botrytis cinerea* im August und September, insbesondere auf Wein, vermerkt, das deutlich mit den hohen Niederschlägen in diesen Monaten im Zusammenhange stand. Auch das Hervortreten bakterieller Erkrankungen im August war zweifellos auf diesen Umstand zurückzuführen, der sich auch durch ein zweites Maximum bei den krautige Pflanzenteile bewohnenden Erysiphaceen bemerkbar zu machen scheint.

Zusammenfassung. Das Jahr 1930 ist ähnlich wie 1927 durch das warme Frühjahr charakterisiert, das ein frühzeitiges Auftreten von Schädlingen bedingt; dieser Umstand, sowie die Trockenheit und Hitze im Juni, die ein Absinken der Frequenzkurve der parasitären Krankheiten nach sich zieht, ist die Ursache der Zweigipfeligkeit dieser Kurve. Die Auswirkungen der Frostschäden des vorangegangenen Jahres reichen noch in dieses Jahr hinüber und sind besonders im Mai und Juni sehr auf-

fallend (Welken an Obstbäumen); zu diesen Welkeschäden kommen später noch solche, die durch die Hitze und Trockenheit des Juni verursacht werden. In manchen Fällen sind beiderlei Schäden schwer voneinander zu trennen.

1931 (vgl. Abb. 5).

Im Witterungsverlauf des Jahres 1931 lassen sich drei Phasen unterscheiden, die einen deutlichen Einfluß auf das Auftreten der Pflanzenkrankheiten genommen haben: 1. der Kälteeinbruch im März, der in den April hineinreicht, 2. der auf diesen folgende heiße und trockene Mai und

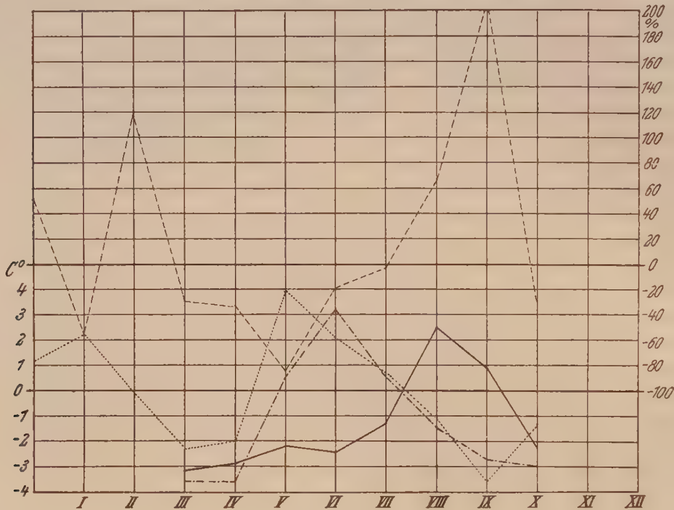


Abb. 5.
Jahresdiagramme 1931.

sehr warme Juni, 3. der nasse und kalte August und September. Das Monatsmittel des Mai war in Wien so hoch wie das Normalmittel des Juni, an manchen Orten noch höher. In Alland betrug die Abweichung vom normalen Maimittel 6,3° (vgl. S. 58).

A. Nichtparasitäre Krankheiten. Winterfrostschäden traten in nur ganz unerheblichem Ausmaße auf. Spätfrostschäden blieben vollständig aus, da die Vegetation infolge der kalten Witterung im April sehr zurück war und auch die Frosttage in der zweiten Maiwoche ausblieben. Um so größer aber waren die durch die Hitze und Trockenheit des Mai verursachten Schäden, die ihren Höhepunkt im Juni erreichten. Die Maiwitterung traf die Vegetation vollständig unangepaßt. Die Hitze setzte sehr plötzlich ein, wodurch das durch den raschen Austrieb wässerig gebliebene Pflanzengewebe besonders stark geschädigt wurde. Heiße und trockene Winde schädigten insbesondere am 3., 14. und 27. Mai die Pflanzen, namentlich Obstbäume. Aber auch Rüben, die in sandigen Lagen über-

dies noch durch Sandgebläse zu leiden hatten, wurden in ganz Österreich stark in Mitleidenschaft gezogen. Die geringste relative Luftfeuchtigkeit des Monats Mai betrug um 14 Uhr 25 % (14. Mai), jene des Monates Juni zur gleichen Tageszeit 27 % (27. Juni). Auch Kartoffelstauden starben stellenweise in den sandigen Böden Niederösterreichs infolge von Hitze und Trockenheit ab. Die meisten Bäume und Sträucher ließen an diesen Tagen in Wien und Umgebung die Blätter welk herabhängen. Viele von ihnen erholten sich nicht mehr und zeigten nach einigen Tagen vollständig oder wenigstens am Rande oder zwischen den Adern verbrannte Blätter.

Im Mai waren es besonders Aprikosen, die plötzlich abwelkten, im Juni dann auch noch Birne, Apfel, Pflaume, weniger Kirsche und Pfirsich. Aber auch Stachel- und Johannisbeeren, Gurken und Bohnen wurden stark geschädigt. Die hohe Zahl der auch noch im Juli und August zur Untersuchung eingesandten nichtparasitären Krankheiten ist ebenfalls auf das Ausklingen der Trockenheitsschäden zurückzuführen. Auch bei diesen Schäden zeigte sich in manchen Fällen, wie dies schon im Jahre 1930 festgestellt werden konnte, ein deutlicher Zusammenhang mit alten Frostschäden, die auf das Jahr 1929 zurückgingen. Es steht außer Zweifel, daß diese Frostschäden für viele Hitzeschäden die nötige Disposition geschaffen haben, soweit es sich nicht um Verbrennungen durch Lufttrockenheit (Föhnschäden) gehandelt hat.

Im August und September finden sich dann noch eine Reihe Krankheiten, die mit der nassen und kalten Witterung dieser Monate in Zusammenhang stehen, wie: glasige Äpfel, aufgesprungene Früchte, Korkwarzen an Weinbeerstielen, Gummifluß, Oedem an Zweigen.

B. Parasitäre Krankheiten: Der kalte Frühling und die dadurch zurückgebliebene Vegetation sowie auch der heiße und trockene Frühsommer haben auf die Entwicklung der parasitischen Pilze stark hemmend eingewirkt. Erst die zunehmenden Niederschläge boten den parasitischen Pilzen günstigere Existenzmöglichkeiten, so daß das Augustmaximum ziemlich plötzlich erreicht wurde. Auch im September gab es noch relativ viele pilzparasitäre Einsendungen; gegen den Oktober erfolgte dann ein rascher Abfall. Das Auftreten der parasitären Krankheiten war somit in diesem Jahre gegen den Herbst hin verschoben und beschränkte sich vorwiegend auf die Monate August und September. Durch die nasse Witterung in der zweiten Hälfte der Vegetationszeit wurde auch in diesem Jahre das Auftreten der Bakterienkrankheiten begünstigt. Auch *Botrytis* trat ziemlich häufig auf und verursachte besonders an Wein Schaden. *Monilia* und Peronosporaceen sind im August häufiger als sonst.

Zusammenfassung. Das Jahr wird durch den trockenheißen Frühsommer und den kalten und regnerischen Sommer- und Spätsommer gekennzeichnet. Hitzeschäden sind besonders von Mai bis Juni auffallend

häufig, alte Frostschäden dürften, ähnlich wie im Jahre 1930, in manchen Fällen die Disposition zu diesen Erscheinungen geschaffen haben. Verbrennungen durch trockene, heiße Winde sind im Mai und Juni zahlreich. Parasitäre Krankheiten sind bis Juni überaus spärlich, im August und September häufig.

Vergleich der fünf Beobachtungsjahre miteinander. 5jähriger Durchschnitt.

Bei Vergleich der fünf Kurvenbilder sind gewisse Gesetzmäßigkeiten zu bemerken. Zunächst fällt auf, daß die Frequenzkurven der parasitären Krankheiten mit jenen der nichtparasitären in der Zeit zwischen Mai und August divergieren. Einem Maximum der nichtparasitären Frequenzkurve entspricht ein Minimum der parasitären und umgekehrt. Eine Ausnahme hiervon bildet der Mai 1927, bei dem die Maxima beider Kurven zusammenfallen, was auf die Spätfröste zurückzuführen ist, die einerseits eine Hemmung der parasitären Krankheiten nicht nach sich gezogen, andererseits aber Frostschäden hervorgerufen haben. Das Zusammenfallen eines Minimums der parasitären Krankheiten mit einem Maximum der nichtparasitären im Sommer hängt damit zusammen, daß Hitze und Trockenheit vielfach zu nichtparasitären Schädigungen führen, während die gleichen Faktoren die parasitischen Krankheiten hemmen. Daher fallen diese extremen Punkte in jenen Monaten mit der größten positiven Temperatur- und größten negativen Niederschlagsabweichung zusammen oder hinken einen Monat nach — wenigstens bei der hier gewählten diagrammäßigen Darstellung; tatsächlich ist die Zeit kürzer, kann aber auf den Monatsdiagrammen nicht zum Ausdruck gebracht werden. Das Minimum der parasitären Frequenzkurve im Juni 1927 ist außer auf Trockenheit auch auf Rückgang der Einsendungen von *Exoascus deformans* zurückzuführen.

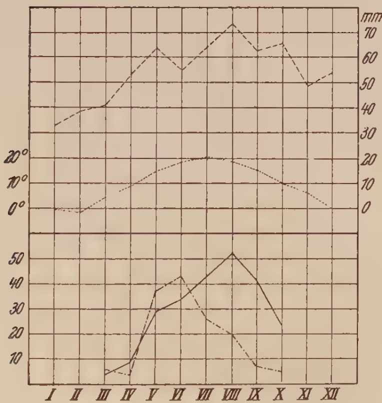


Abb. 6.
Unten 5jähriger Durchschnitt aus den beiden Frequenzkurven. Oben 5jähriger Durchschnitt der Temperatur und des Niederschlages.

Die Maxima der parasitären Frequenzkurve fallen mit Ausnahme des Jahres 1928, in dem der Höhepunkt schon im Juli erreicht wird, in den August; dies ist auch bei der aus dem 5jährigen Durchschnitt konstruierten Kurve (Abb. 6) der Fall. Das Maximum der durchschnittlichen nichtparasitären Frequenzkurve fällt in den Juni, wobei auch schon der Maiwert dem Maximum ziemlich nahe kommt. Bei letzterer Kurve sind es zunächst die direkten Winterschäden (Frostplatten und Risse), dann die Spätfröste, denen zeitlich die indirekten Winterfrostschäden (Spitzendürre, Welkeerscheinungen)

folgen, welch letztere in die durch Hitze und Trockenheit bedingten Krankheitserscheinungen übergehen.

Während die 5jährige Frequenzkurve der parasitären Krankheiten von einer vieljährigen Durchschnittskurve kaum wesentlich abweichen dürfte, ist dies bei jener der nichtparasitären Krankheiten sicherlich nicht der Fall. Die abnormalen Witterungsverhältnisse, insbesondere die stark abnormalen Temperaturmittel im Winter 1929 und Mai 1931 haben zu so zahlreichen Schädigungen geführt, daß diese Kurve gegenüber einem vieljährigen Durchschnitt stark überhöht erscheint. Die Frequenzkurve der nichtparasitären Krankheiten wäre somit bei einem langjährigen Mittel wesentlich flacher, wie die hier gezeichnete, in Bezug auf den Zeitpunkt des Maximum wohl aber gleich.

Bei der 5jährigen parasitären Frequenzkurve ist besonders ein Vergleich mit den aus den 5 Jahren berechneten absoluten Monatsmitteln von Temperatur und Niederschlag (Abb. 6) von Interesse. Die Abhängigkeit der parasitären Krankheiten von der Temperaturzunahme, insbesondere aber den Niederschlägen, geht aus dem Vergleich dieser Kurven deutlich hervor.

Die Verteilung einzelner Krankheiten in den Beobachtungsjahren.

Die Zahl der Einsendungen der einzelnen parasitären Krankheiten ist im allgemeinen zu gering, als daß sie statistisch verwertet werden könnten. Immerhin aber ergeben sich in manchen Fällen gewisse auffällige Tatsachen, die hier zusammengestellt sein mögen.

Von den nichtparasitären Krankheiten stellen die Winterfrostschäden des Jahres 1929 und ihre Nachwirkungen sowie die Hitze und Trockenheitsschäden der folgenden Jahre das Hauptkontingent. Die Verteilung dieser Schäden innerhalb der Jahre 1929—1931 ist in den Kurven der Abb. 7 zusammengestellt. Die voll ausgezogenen Kurven geben die Winterfrostschäden (im März die direkten, in den folgenden Monaten fast ausschließlich die indirekten) an, die strichlierten die Schäden infolge von Hitze und Trockenheit. Während bei den indirekten Winterfrostschäden eine Abnahme vom Jahre 1929 gegen das Jahr 1931 festzustellen ist, sehen wir bei den Hitzeschäden das Entgegengesetzte. Bei letzteren ist überdies von 1929 gegen 1931 eine deutliche Verschiebung gegen den Mai und Juni erkennbar. Auch aus dieser Kurvengegenüberstellung ist zu ersehen, daß in den zwei folgenden Jahren 1930 und 1931 die indirekten Frostschäden nicht ohne weiteres von den Hitzeschäden zu unterscheiden sind.

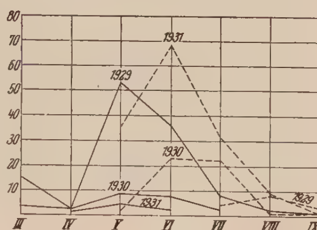


Abb. 7.
Zahl der eingesandten Hitzeschäden (----) und sekundären Winterfrostschäden (——) in den Jahren 1929—1931.

Bei den Bakterienkrankheiten ist ein Zusammenhang zwischen Frequenz und Niederschlag zu bemerken. Sie treten daher besonders in

niederschlagsreichen Spätsommern (1930-1931) auf. Gleiches gilt von *Botrytis cinerea*. Bei den Peronosporaceen ist nur im Jahre 1931 ein Zusammenhang zwischen Niederschlag und Einsendungszahl festzustellen. Bei dieser Pilzgruppe lassen sich überhaupt schwer Rückschlüsse auf die Häufigkeit des Auftretens aus den Einläufen ziehen, da die zwei häufigsten Arten der Gruppe (*Plasmopara viticola* und *Phytophthora infestans* auch bei häufigem Auftreten nur selten eingesandt werden. Erstere kennt jeder Weinbauer, die Krautfäule aber wird vom einfachen Landwirt unmittelbar mit der regnerischen Witterung in Zusammenhang gebracht, ohne daß er hinter ihr einen Pilz vermutet. Auch bei den Uredineen ist mit dem eingelaufenen Material statistisch nicht viel anzufangen. Immerhin aber mag bemerkt werden, daß die größere Zahl der eingesandten Rostpilze im Jahre 1929 vor allem auf das häufige Auftreten von *Gymnosporangium sabinae* zurückzuführen ist. Die beiden Maxima im Juni und September sind einerseits auf Einsendungen des Pycnidenstadiums, andererseits auf solche des Aecidienstadiums zurückzuführen. Das stärkere Auftreten des Gitterrostes im Jahre 1928 ist wahrscheinlich auf günstige Infektionsbedingungen im Mai zurückzuführen und man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man die feuchte und kühle Witterung dieses Monats für dieselben als günstig betrachtet.

Interessant erscheint mir das starke Auftreten von *Exoascus deformans* im Jahre 1927 und das Fehlen der Krankheit im Jahre 1929. Der Pilz, dessen Mycel in den Knospen überwintert, scheint somit nach einem warmen Winter und Vorfrühling stark aufzutreten, hingegen durch eine wesentlich unter dem Mittel gelegene Temperatur zu dieser Zeit zum Verschwinden gebracht zu werden. Wahrscheinlich ist für diese Erscheinung auch das Abfrieren der infizierten Knospen verantwortlich zu machen. Das schwache Auftreten trotz der warmen Vorfrühlingswitterung im Jahre 1930 ist kein Gegenbeweis für diese Annahme, da der Pilz im Jahre 1929 eben fast zum Verschwinden gebracht wurde. Ob die hier ausgesprochene Vermutung richtig ist, müßten allerdings erst vieljährige Beobachtungen ergeben. Zu bemerken ist auch das verspätete Auftreten der Kräuselkrankheit der Pfirsiche im Jahre 1928 infolge der kalten Maiwitterung.

Bei den Erysiphaceen findet sich das Maximum im Mai oder Juni. Nur im Jahre 1930 waren zwei Maxima nachzuweisen, von denen das zweite im August besonders auf häufigere Einsendungen von *Oidium* auf Wein zurückzuführen ist. Das Jahr 1927 war besonders reich an Erysiphaceen, 1929 arm, was in vielen Fällen sicherlich auf das Abfrieren der befallenen Triebe (Apfel-, Rosen-, Stachelbeermehltau) zurückzuführen ist.

Die durch *Monilia* verursachte Fruchtfäule ist weniger von der Witterung unmittelbar, als von der Häufigkeit des Auftretens der Obst-

made und Kirschenfliege abhängig, deren Schlupflöcher zu Eingangspforten für die Moniliasporen werden. Welkekrankheiten im Frühjahr, die auf Monilia zurückzuführen sind, scheinen ebenfalls einen Zusammenhang mit der Witterung nicht erkennen zu lassen.

Fusicladium (*Venturia pirina* und *Venturia inaequalis*, nur auf Blättern und Früchten berücksichtigt), trat besonders im Jahre 1928 stärker auf. Das Auftreten der Krankheit hängt sichtlich mit stärkeren Niederschlägen und höherer Luftfeuchtigkeit zusammen.

Auffällig waren die häufigen Einsendungen von *Ophiobolus* Ende Juni und Anfang Juli 1927; die gleichmäßige Wärme und Feuchtigkeit in dieser Zeit scheinen das Auftreten des Pilzes begünstigt zu haben.

Blattfleckenpilze unter welchem Namen ich hier sowohl Ascomyceten wie *Stigmatea* und *Mycosphaerella*, als auch Imperfekte, wie *Phyllosticta*, *Ascochyta*, *Septoria*, *Cercospora* u. a. zusammenfasse, haben durchwegs ihr Maximum im August. Im Jahre 1927 traten sie besonders stark auf. Ihre Abhängigkeit von den Niederschlägen zeigte besonders das Jahr 1931 deutlich, in dem sie bis zum Juni spärlich auftraten, in dem nassen August aber plötzlich sehr häufig wurden.

Zusammenfassung.

1. Auf Grund eingesandter Proben kranker Pflanzen wird der Versuch gemacht, die Häufigkeit der parasitären und nicht parasitären Krankheiten mit den Abweichungen der Temperatur und der Niederschläge von den normalen Monatsmitteln in Beziehung zu bringen.
2. Die Untersuchung bezieht sich auf die Jahre 1927—1931. Verglichen werden die monatlichen Einläufe mit den klimatischen Verhältnissen von Wien.
3. Die Frequenzkurven der parasitären und jene der nichtparasitären Krankheiten lassen innerhalb des gleichen Jahres deutliche Zusammenhänge zwischen Witterung und Frequenz erkennen.
4. Die Maxima der parasitären Frequenzkurven alternieren im selben Jahre fast stets mit den Maxima der nicht parasitären Frequenzkurven.
5. Im 5jährigen Durchschnitt liegt das Maximum der parasitären Frequenzkurve im August, das der nichtparasitären im Juni.
6. Ein Vergleich dieser durchschnittlichen parasitären Frequenzkurve mit den durchschnittlichen Temperatur- und Niederschlagskurven (Abb. 7) läßt deutlich den Zusammenhang zwischen den parasitären Krankheiten mit der Temperatur und den Niederschlägen erkennen.
7. Die Frostschäden des Jahres 1928/29 machen sich nicht nur im Sommer 1929, sondern auch noch in den folgenden Beobachtungsjahren geltend.

8. Ein großer Teil der an Obstbäumen im Jahre 1930 und 1931 beobachteten Hitzeschäden (Welke) ist zwar erst durch Hitze und Trockenheit ausgelöst worden, ist aber ohne Zweifel primär auf Frost zurückzuführen.
9. Es wird die Häufigkeit des Auftretens einiger Pilze und Pilzgruppen innerhalb der Beobachtungsjahre besprochen, soweit dies auf Grund des vorgelegenen Materiales möglich war.

Aus dem „Instituut voor Phytopathologie"
„Laboratorium voor Mycologie en Aardappelonderzoek".
Wageningen, Holland.
(Leiter: Prof. Dr. H. M. Quanjer.)

Über eine komplexe Viruskrankheit der Tomate.

Von

H. M. Quanjer und K. Silberschmidt.

Mit 5 Textabbildungen.

Inhalt: 1. Einleitung und Literaturübersicht. — 2. Eigene Erfahrungeu über eine komplexe Tomatenvirose. — Literatur.

1. Einleitung und Literaturübersicht.

In den älteren Berichten über die Mosaikkrankheit der Tomate (8, 9, 10, 32) wird die Auffassung vertreten, daß bei dieser Krankheit außer einer Fleckenbildung auch eine Verschmälerung der Blattspreiten bis auf die Hauptnerven, sowie bisweilen eine bronzeartige Verfärbung der Blätter und Nekrosen des Blatt- und Stengelgewebes auftreten kann.

Jetzt weiß man aber, daß nicht alle genannten Symptome durch ein Virus hervorgerufen werden, sondern daß es verschiedene Virosen der Tomate gibt, welche vielfach zusammen auftreten.

Eine Erscheinung, welche derzeit vielfach mit der Mosaikkrankheit der Tomate in Zusammenhang gebracht wurde, ist die als „fern-leaf" oder „string leaf" bezeichnete starke Verschmälerung der Blattspreiten. Sie soll aber verursacht werden durch einige Virusarten, welche in mosaikkranken Gurken gefunden worden sind. Von diesen wird die Krankheit durch die Blattlaus *Myzus persicae* auf die Tomate übertragen (19). Es ist also fraglich, ob ältere Berichte, in denen diese Erscheinung als Symptom der eigentlichen Mosaikkrankheit genannt wird, in dieser Hinsicht glaubwürdig sind.

Was weiterhin die bronzeartige Verfärbung anlangt, welche auch in älteren Arbeiten bei Gelegenheit des Tomatenmosaiks erwähnt wird, so gehört diese als Symptom zu der australischen „spotted wilt"-Krankheit, welche durch die Thripsart *Frankliniella insularis* übertragen wird (23) und die wahrscheinlich auch in den Vereinigten Staaten (5) vorkommt. Neuerdings hat man sie auch in der Nähe von Cardiff gefunden, wo sie von *Thrips tabaci* verbreitet wird (26).

In den neueren Arbeiten über das Tomatenmosaik wird in der Regel nur über Fleckenbildung gesprochen. Am meisten verbreitet scheinen

auch in der Tomatenkultur die „true tobacco mosaics“ zu sein, also die Viren, welche sich durch große Resistenz gegen Austrocknung, chemische Angriffe und hohe Temperaturen auszeichnen (16). Ihre Tötungstemperatur liegt zwischen 85 und 90° C. Ihr Vorkommen ist auf die Familie der Solanaceen beschränkt. Auch das „yellow tomato mosaic“, das man in England wohl „aucuba mosaic“ nennt (11), obgleich es nichts mit dem Aucubamosaik der Kartoffel zu tun hat, gehört nach Henderson Smith wahrscheinlich zu dieser Gruppe der „true tobacco mosaics“. Daß die Krankheiten dieser Gruppe am meisten verbreitet sind, scheint nicht dem Samenhandel zuzuschreiben zu sein; diese Viren werden bei dem Tabak nicht, bei der Tomate nicht oder selten mit dem Samen übertragen. Ihre Verbreitung mit Rauch- und Kautabak dagegen ist einwandfrei festgestellt (27).

Es muß noch erwähnt werden, daß die Verbreitung auf kleinere Areale sehr leicht durch Saft stattfindet. Schon beim Auspflanzen von Tabak oder Tomate übertragen die Arbeiter diese Viren, wenn sie nach der Beschäftigung mit kranken Pflanzen gesunde Pflanzen berühren. Auch kann die Infektion von Reinigungsabfällen der Tabakpflanze ausgehen. In feuchtem Grund verfaulen allerdings solche Überbleibsel, wobei die Virulenz nicht erhalten bleibt; in trockenem Boden kann Überwinterung stattfinden. Merkwürdig ist auch, daß die Blattlaus Myzus persicae die Krankheit von Tomate auf Tomate und andere Solanaceen, nicht aber von Tabak auf andere Solanaceen überträgt (12).

Nachdem im Vorstehenden auf einige Erkrankungen der Tomate hingewiesen wurde, welche je durch ein einziges Virus verursacht werden, sollen nun die in der Literatur niedergelegten Erfahrungen über komplexe Viruskrankheiten kurz skizziert werden. Seitdem in Amerika festgestellt worden ist, daß eine heftige Erkrankung der Tomaten durch gleichzeitige Infektion mit 2 Virusarten hervorgerufen werden kann, nämlich 1. mit einem der „Tabakmosaikviren“ und 2. einem von Kartoffeln stammenden Virus, haben sich viele andere mit dem Studium solcher komplexer Erkrankungen beschäftigt. Die Symptome der erwähnten Tomatenkrankheit gleichen denen eines starken Mosaiks, wobei außer den üblichen Symptomen Nekrosen auf den Blättern und Früchten und schwarze Streifen auf den Nerven, Blattstielen und Stengeln auftreten; man spricht dann von „streak“ oder Strichelnekrose.

Vanterpool (30) bewies, daß an „streak“ leidende Tomatenpflanzen, wenn sie getrocknet werden, nunmehr das resistente Tabaksmosaikvirus enthalten, während die aus Kartoffeln stammende Komponente unwirksam geworden ist. Auch gelang es ihm durch Infektion mit den beiden Komponenten Tomatenpflanzen „streak“krank zu machen.

Valleau und Johnson (28, 29) gelang es den Nachweis zu führen, daß eine „streak“krankheit auch durch ein resistentes Virus der „true

tobacco mosaic" Gruppe, welches von ihnen Ringmosaikvirus genannt wird, hervorgerufen werden kann. Sie haben ferner auch bewiesen, daß Streak-Krankheiten meist entstehen durch kombinierte Infektion mit entweder 1. einem der „true tobacco mosaik"-viren und dem „healthy potato virus" oder 2. mit einem der sogenannten „tobacco etch viruses" und dem „healthy potato virus", oder 3. mit einem der Gurkenmosaikviren und „healthy potato virus". Diese verschiedenen „streak"typen unterscheiden sich von einander nicht allein in Bezug auf Zeichnung und Heftigkeit sondern auch durch das Auftreten nekrotischer Flecken auf den Früchten.

Böning (3) hat die komplexe Natur einer in Deutschland vorkommenden Strichelnekrose der Tomate dargetan. Nach seinen Angaben verbreitet sich in der Tomate die Mosaikkomponente schneller als die Strichelkomponente. Er konnte daher auf zwei verschiedenen Wegen die Mosaikkomponente aus dem Viruskomplex gewinnen, nämlich einerseits dadurch, daß er die Pflanze zwei Monate lang einem Trocknungsprozeß unterwarf, andererseits indem er von infizierten Pflanzen Spitzen als Infektionsgut verwendete, in welche zwar schon die Mosaikkomponente vorgedrungen war, noch nicht aber die Strichelkomponente. Es gelang ihm aber nicht, willkürlich diese Krankheit aus 2 Komponenten zu synthetisieren, weil ihm die Herkunft der weniger resistenten Komponente unbekannt war. Ob die Strichelnekrose der Tomate, über welche Volk (31) berichtet, und die Streifenkrankheit, von welcher Fricklinger zu Unrecht behauptet, daß sie von einem aus Holland eingeführten Bakterium verursacht sei (7), identisch mit der von Bönig beschriebenen ist, läßt sich nicht entscheiden.

Daß wahrscheinlich eine in England (13) vorkommende Streakkrankheit der Tomate ebenfalls komplexer Natur ist, scheint aus der Tatsache hervorzugehen, daß Jarrett bei Infektionsversuchen bald „streak" und bald „mosaic" erhielt. Es gelang ihr aber nicht, eine der beiden Komponenten auszuschalten.

In Bezug auf das „healthy potato virus", soll hier noch bemerkt werden, daß es in Amerika wenigstens zwei Virussorten gibt, welche verborgen in den dortigen Handelssorten der Kartoffeln leben, und welche u. a. nach Saftübertragung auf die Tomate sichtbare Symptome hervorrufen. Das eine von Barnett und Jones (4) als „the latent virus" bezeichnet, ruft in der Tomate nur eine schwache Fleckenbildung, das andere, als „the virulent latent virus" bezeichnet, eine Fleckennekrose hervor; in dieser Hinsicht stimmt das letztere überein mit dem englischen x-Virus (25). Diese beiden Viren lassen sich leicht mittels Saftes, nicht aber durch Blattläuse übertragen, auch erzeugen sie beide, zusammen mit einem der true tobacco mosaics, Strichelnekrose in der Tomate.

Auch in europäischen Kartoffelsorten sind zwei Virusarten aufgefunden worden (22), von denen die eine, wie wir im nächsten Kapitel dartun

werden, in Bezug auf ihre Wirkung auf Tomate sich wie „the latent virus“ verhält. Nicht in allen Kartoffelsorten lebt sie verborgen; gesund aussehende Industrie enthält dieses Virus nicht; auch viele holländische Sorten sind virusfrei. Überträgt man Saft gesund aussehender Kartoffeln der Sorte Magdeburger Blaue auf Pflanzen der Sorte Industrie, dann tritt auf letzteren eine Krankheit zutage, welche als Akronekrose beschrieben worden ist (20, 21). Darum ist in Holland das verborgen in der Sorte Magdeburger Blaue lebende infektiöse Agens als Virus der Akronekrose beschrieben.

Das andere Virus, welches u. a. in latenter Form in Kartoffeln der Sorte „Zeeländer Blaue“ vorkommt (1, 6, 22), ist sehr verschieden von den beiden „amerikanischen“ Viren; es ruft in einigen virusfreien Kartoffelsorten, wie Industrie eine Krankheit hervor, welche als „Akropetale Nekrose“ beschrieben worden ist (20, 21); es wird leicht von der Blattlausart *Myzus persicae* übertragen (6) und gleicht in dieser Hinsicht der amerikanischen „veinbanding“ und dem englischen y-virus (14, 25); es übt aber auf Tabak keine sichtbare Wirkung aus. Es beteiligt sich nicht an der Entstehung einer Strichelnekrose weder beim Tabak noch bei der Tomate, weshalb es hier nicht weiter in Betracht kommen wird.

Es soll hier zum Schlusse erwähnt werden, daß Schaffnit und Müller (24) der Frage nachgingen, ob die durch sie studierte Strichelnekrose des Tabaks eine komplexe Krankheit sei. Zu diesem Behuf führten sie Infektionen aus mit Saft, welcher als einen Bestandteil das Virus des Tabakmosaiks und als zweiten Bestandteil entweder Saft von gesunden Kartoffeln oder von fleckmosaikkranken oder endlich von kräuselmosaikkranken Kartoffeln enthielt. Die sämtlichen zu den Infektionen verwendeten Kartoffeln gehörten, wie es scheint, der Sorte Industrie an. Es gelang den Autoren aber nicht, die Strichelnekrose hervorzurufen.

2. Eigene Erfahrungen über eine Komplexe Tomatenvirose.

Den unmittelbaren Anstoß zu eigenen Versuchen gaben die negativen Ergebnisse, zu welchen Schaffnit und Müller bei der Verfolgung der künstlichen Synthese der Strichelnekrose des Tabaks gelangt waren. Da sie bei ihren Infektionsversuchen neben dem Preßsaft aus mosaikkrankem Tabak nur Extrakt einer Kartoffelsorte und zwar wahrscheinlich der Sorte Industrie verwendet hatten, sollte nunmehr geprüft werden, ob die Synthese einer komplexen Krankheit bei Verwendung einer anderen Kartoffelsorte gelinge. Wir haben uns bei diesen Versuchen vorläufig auf eine Testpflanze, nämlich die Tomate beschränkt.

Zu diesem Zwecke wurde die Sorte Magdeburger Blaue gewählt, weil, wie im ersten Kapitel erwähnt wurde, in anscheinend gesunden Pflanzen dieser Sorte das Virus der akropetalen Nekrose vorkommt, das in seiner Wirkung auf die Tomate mit dem „latent virus“ von Barnett und Jones übereinstimmt.

Der Versuch der Synthese einer komplexen Viruskrankheit der Tomate wurde von uns Anfang Juni 1931 in Wageningen ausgeführt. Als Ausgangsmaterial dienten gesunde Tomatenpflanzen der Sorte Elsa Graig. Als erste Komponente wurde gewählt das Tabakmosaik, das denselben Kulturen von Amersfoorter Tabak entstammte, von welchen Adolf Mayer (18) und Beyerinck (2) ihr Material gesammelt hatten. Als Lieferanten der zweiten Komponente fanden anscheinend gesunde Kartoffeln der Sorte Magdeburger Blaue Verwendung. Zum Vergleich verwendeten wir gesunde Versuchspflanzen der Sorte Industrie, welche sich in Wageningen bei Überimpfungsversuchen auf andere Kartoffelsorten und Solanaceen als virusfrei erwiesen hatten.

Über die Ausführung der Versuche geben die folgenden Einzelheiten Aufschluß. Alle Tomatenpflanzen, welche infiziert wurden, hatten etwa 12 Blätter und standen in Töpfen in einer gegen Insektenbesuch geschützten Abteilung der Infektionshäuser. Am 5. Juni wurden auf 4 dieser Pflanzen Gipfelsprosse der Sorte Magdeburger Blaue gepfropft. Ebenso erhielten 4 solcher Tomatenpflanzen Gipfelreiser der Sorte Industrie. Die übrigen Infektionen wurden ausgeführt durch Einreiben von je 4 Tomatenpflanzen mit Infektionsflüssigkeiten, welche in der folgenden Weise hergestellt wurden.

Infektionsflüssigkeit Industrie: 3 g Frischgewicht von Blättern der virusfreien Sorte Industrie wurden im sterilen Mörser mit 3 ccm destilliertem Wasser verrieben.

Infektionsflüssigkeit Magdeburger Blaue: 10 g Frischgewicht von gesund aussehenden Blättern dieser Sorte wurden mit 10 ccm destilliertem Wasser in einem sterilen Mörser verrieben.

Infektionsflüssigkeit Tabakmosaik: 5 g Frischgewicht von Blättern einer mosaikkranken Tabakspflanze wurden mit 5 ccm destilliertem Wasser in einem sterilen Mörser verrieben.

Zur Herstellung der Mischflüssigkeit Industrie und Tabakmosaik wurden 0,5 ccm von beiden miteinander vermengt und geschüttelt; zur Herstellung der Mischflüssigkeit Magdeburger Blaue und Tabakmosaik wurden 1 ccm von jeder miteinander vermischt.

Die Infektionen mit diesen Flüssigkeiten wurden ausgeführt durch Einreiben der Blätter mittels steriler Baumwolle, die mit der Infektionsflüssigkeit getränkt worden war; diese Versuche wurden am 6. Juni ausausgeführt.

Die zwei Wochen später von dem älteren von uns ermittelten Befunde führten zu dem folgenden Ergebnis:

Alle durch Einreiben der Blätter mit Tabakmosaik infizierten Pflanzen zeigten die Symptome des gewöhnlichen Tomatenmosaiks mit einigen Unebenheiten der Blätter wie sie von Beyerinck beschrieben worden sind (Abb. 1).

Alle durch Einreiben der Blätter mit Saft von Magdeburger Blaue infizierten Pflanzen zeigten eine schwache Fleckung, aber keine Unebenheit der Blätter (Abb. 2). Die Fleckung zeigt sich nicht nur im Gipfel, sondern eher gleichmäßig auch auf den unteren Blättern, in denen sich das gelbgrün verfärbte Mesophyll von den grün gebliebenen Nerven abhebt.

Alle Pflanzen, deren Blätter mit einer Mischung der beiden obengenannten Infektionsflüssigkeiten eingerieben worden waren, oder von welchen ein Blatt oder eine Blatthälfte mit einer Flüssigkeit behandelt worden war, während ein anderes Blatt oder die entsprechende andere Blatthälfte mit der zweiten Infektionsflüssigkeit infiziert worden war, zeigten in der Folge eine sehr schwere Form einer Mosaikerkrankung, wobei die Blätter sehr uneben wurden und die jüngsten Blätter mit allen ihren Fiedern sich aufwärts rollten und eingezogenen Vogelkrallen glichen, wie dies Bönig beschrieben hat (Abb. 3). Auch erschienen wie bei „streak" dunkle Streifen auf den Nerven, Blattstielen und Stengeln.

Alle durch Stengelpfropfung mit Reisern der Sorte Magdeburger Blaue infizierten Pflanzen erfuhren eine etwas stärkere Fleckung als die durch Einreiben mit Saft aus dem gleichen Material infizierten Pflanzen, zeigten aber nie Unebenheiten der Blattflächen (Abb. 4).

Alle Pflanzen, auf deren Stengel Reiser der Sorte Industrie gepfropft worden waren, oder deren Blätter mit Saft gesunder Pflanzen der Sorte Industrie eingerieben worden waren, blieben vollkommen gesund (Abb. 5).

Offensichtlich ist die auf Abb. 3 kenntliche starke Krankheit aus zwei Komponenten zusammengesetzt, nämlich der in Abb. 1 und der in Abb. 2 dargestellten, also aus dem klassischen Tabaksmosaikvirus und einem Virus der Akronekrose.

Bei der durch uns untersuchten Doppelkrankheit ist die nekrotische Wirkung gering. Als Stengelstücke zur anatomischen Untersuchung in Alkohol verbracht wurden, verschwanden die meisten dunkleren Streifen. Es ergab sich, daß in dem subepidermalen Gewebe langgestreckte Zellgruppen, welche dunkelgrüne Chlorophyllkörner führen, abwechseln mit Zellen, welche helle Chlorophyllkörner enthalten. Nur in einigen Fällen war diese Zellage nekrotisch. Auf den Früchten war keine nekrotische Wirkung zu erkennen. In dieser Hinsicht unterscheidet sich die durch uns synthetisch hergestellte Strichelnekrose von der durch Gardner und Kendrick (10) beschriebenen „tomato streak", da diese durch stärkere Nekrose auch im Innern von Stengel und Früchten charakterisiert ist.

Jedenfalls zeugt das Ergebnis dieses Versuches von der Möglichkeit der Synthese einer Strichelnekrose der Tomate aus ihren Komponenten, wenn sich die Frage auch nicht entscheiden läßt, ob die von uns erzielte komplexe Krankheit mit der in Deutschland vorkommenden Strichelnekrose identisch ist.

Da die auf Abb. 2 dargestellten Pflanzen offensichtlich in allen vier Fällen schwächere Fleckung zeigten als die auf Abb. 4 veranschaulichten Individuen, können wir die Frage aufwerfen, ob auch nicht das Akronekrosevirus der Magdeburger Blaue sich aus zwei Komponenten aufbaut, welche beide zwar durch Pfropfung übertragbar sind, von denen aber bei Anwendung der Einreibmethode nur die eine auf die zu infizierende Pflanze übergeht.

Ergebnisse.

Aus anscheinend gesunden Kartoffeln der Sorte Magdeburger Blaue wurde auf Tomate eine etwas stärkere Fleckenkrankheit mittels Pfropfung als mittels Saftübertragung erhalten, was auf die Möglichkeit hindeutet, daß in dem Akronekrosevirus der Sorte Magdeburger Blaue ein Komplex vorliegt. Die durch das Akronekrosevirus auf Tomaten hervorgerufene Erkrankung ruft keine Unebenheit der Blattspreiten hervor. Sie zeigt sich gleichmäßig in allen Blättern der infizierten Pflanzen.

Die Übertragung des klassischen Tabaksmosaik von Adolf Mayer und Beyerinck ruft in der Tomate eine Mosaikkrankheit hervor, welche von derjenigen, die in der Praxis auftritt, nicht zu unterscheiden ist. Bei dieser durch das klassische Tabakmosaikvirus hervorgerufenen Erkrankung treten die Krankheitssymptome, Mosaik mit Unebenheit der Blattspreiten, vor allem auf den jüngsten sich eben vom Vegetationspunkt abgliedernden Blättern auf.

Durch gleichzeitige Saftübertragung eines aus gesunden Pflanzen der Sorte Magdeburger Blaue gewonnenen Virus und des klassischen Tabakmosaikvirus wurde eine Strichelnekrose der Tomate hervorgerufen.

In offensichtlich gesunden mosaikfreien Pflanzen der Kartoffelsorte Industrie wurde, wie in vielen holländischen Sorten, kein Virus aufgefunden.

Literatur.

1 Atanasoff, D., Stipple-streak disease of the potato. Rept. Internat. Conf. Phytopathology and econ. Entomology 32, 1923.

2 Beyerinck, M. W., Über ein Contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter. Verh. Kon. Acad. Wetensch. Amsterdam 2e Sect. VI, 5, 1898.

3 Böning, K., Beiträge zum Studium der Infektionsvorgänge pflanzlicher Viruskrankheiten. I. Mitt. Zeitschr. Parasitenkunde 198—230, 1928.

4 Burnett, G. and Jones, L. K., The effect of certain potato and tobacco viruses on tomato plants. Bull. 259, Agr. Exp. St. Pullmann, Washington, 1931.

5 Doolittle, P. P. and Summer, G. H., The occurrence of the australian spotted wilt of tomatoes in Wisconsin. Phytopathology 21, 1931, 106.

6 Elze, D. L., The relation between insect and virus as shown in potato leaf roll, and a classification based on this relation. Phytopathology 21, 675—686, 1931.

7 Fricklinger, H. W., Die Streifenkrankheit der Tomaten, ein neuartiges Krankheitsbild. Erfurter Führer im Obst- und Gartenbau XXXI, 395, 1930.

8 Gardner, M. W., Hyperplastic crushing of the tracheal tubes in mosaic tomato stems. Phytopathology 15, 759 - 762, 1925.
9 Gardner, M. W., Necrosis, hyperplasis, and adhesions in mosaic tomato fruits Journ. Agric. Res. 30, 871—888, 1925.
10 Gardner, M. W. and Kendrick, J. B., Tomato mosaic Purdue. Univ. Agr. Exp. Stat. Bull. 261, 1922.
11 Henderson Smith, J., Experiments with a mosaic disease of tomato. Ann. Appl. Biol. 15, 155—166, 1928.
12 Hoggan, I. A., Further studies on aphid transmission of plants viruses. Phytopathology 21, 199—212, 1931.
13 Jarrett, P. H., Streak, a virus disease of tomatoes. Ann. Appl. Biol. 17, 248 - 259, 1930.
14 Johnson, E. M., Virus diseases of tobacco in Kentucky. Kentucky Agr. Exp. Stat. Bull. 306, 1930.
15 Johnson, J., Transmission of viruses from apparently healthy potatoes. Wisc. Agr. Exp. Stat. Res. Bull. 63, 1925.
16 Johnson, J., The classification of plant viruses. Wisc. Agr. Exp. St. Res. Bull. 76, 1927.
17 Lehman, S. G., Tobacco mosaic. Plant pathology at the North Carolina Station. N. Car. Stat. Rep. 97—110, 1930.
18 Mayer, A., Über die Mosaikkrankheit des Tabaks. Landw. Versuchsstationen 32, 451—467, 1886.
19 Mogendorff, N., „Fern-leaf“ of tomato. Phytopathology 20, 25—46, 1930.
20 Quanjer, H. M., The methods of classification of plant viruses, and an attempt to classify and name potato viruses. Phytopathology 21, 577—613, 1931.
21 Quanjer, H. M., Die Autonomie der phytopathogenen Virusarten. Phytopathologische Zeitschrift 4, 205—224, 1932.
22 Quanjer, H. M. en Oortwijn Botjes, J. G., Aardappelziekten van het „stippelstreep“ en „topnecrose“ type en het vraagstuk der latentie en physiologische specialisatie. Meded. Landbouwhoogeschool 33, 1929.
23 Samuel, G., Bald, J. G. and Pittmann, H. A., Investigations on „spotted wilt“ of tomatoes. Commonw. of Australia, Counc. Sc. Ind. Res. Bull. 44, 1930.
24 Schaffnit, E. und Müller, W., Wechselseitige Virusübertragungen innerhalb der Familie der Solanaceen. Phytopathologische Zeitschrift 3, 105—136, 1931.
25 Smith, K. M., On the composite nature of certain potato virus diseases of the mosaic group as revealed by the use of plant indicators and selective methods of transmission. Proc. Roy. Soc. B. 109, 251—267, 1931.
26 Smith, K. M., Thrips tabaci Lind. as a vector of plant virus disease. Nature 127 (3214), 852—853, 1931.
27 Valleau, W. D. and Johnson, E. M., Commercial tobacco's and cured leaf as sources of tobacco mosaic. Phytopathology. 17, 513—522, 1927.
28 Valleau, W. D. and Johnson, E. M., Some possible causes of streak in tomatoes. Phytopathology 20, 831—839, 1930.
29 Valleau, W. D. and Johnson, E. M., The viruses concerned in a natural epiphytotic of streak in tomatoes. Phytopathology 21, 1087—1089, 1931.
30 Vanterpool, T. C., Streak or winter blight of tomato in Quebec. Phytopathology 16, 311—331, 1926.
31 Volk, A., Einflüsse des Bodens, der Luft und des Lichtes auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Krankheiten. Phytopathologische Zeitschrrift 3, 1—88, 1931.
32 Westerdijk, Joha, Die Mosaikkrankheit der Tomaten. Meded. Phytop. Lab. „Willie Commelin Scholten“ 1, 1910.



Abb. 4. Abb. 5.

Abb 1. Reaktion der Tomate auf das klassische Tabakvirus von Adolf Mayer und Beyerinck. (Eins der „true tobacco mosaics“.) Einreibversuch.

Abb. 2. Reaktion der Tomate auf das Virus der Akronekrose aus anscheinend gesunden Kartoffeln der Sorte Magdeburger Blaue. Einreibversuch.

Abb. 3. Reaktion der Tomate auf die Mischinfektion mit dem Virus des klassischen Tabakmosaiks und dem Virus der Akronekrose aus „Magdeburger Blaue“. Einreibversuch.

Abb. 4. Reaktion der Tomate auf das Virus der Akronekrose aus Magdeburger Blaue. Pfropfversuch.

Abb. 5. Keine Reaktion findet statt bei Pfropfung von Reisern der virusfreien Sorte Industrie auf Tomate. Pfropfversuch.

Die Viruskrankheiten.

Von

J. Dufrénoy.

(Vorgetragen beim Zweiten Internationalen Kongreß für vergleichende Pathologie. Paris, 14.—18. Oktober 1931).

Übersetzt von L. Genevois.

Mit 6 Textabbildungen.

1. Die „Virus"-Krankheiten der Pflanzen.

Ein „Virus" ist von Quanjer (Wageningen, Holland) als ein infektiöses Agens definiert, das die Fähigkeit besitzt, bei einer Pflanze eine Krankheit zu verursachen, die hauptsächlich die chlorophyllhaltigen Gewebe betrifft und die sich im allgemeinen durch eine partielle Entfärbung der Blätter äußert: auf der grünen Fläche der Blätter erscheint ein „Mosaik" von gelben Flecken, als Folge der Hemmung der Entwicklung der Chloroplasten (Cook, Porto-Rico) oder deren Vernichtung.

Das Virus filtriert durch Chamberlands Kerzen, die die kleinsten, unter dem Mikroskop sichtbaren Mikroben zurückhält; um infektiös zu sein, muß es in die lebende Zelle eindringen, entweder durch eine Wunde oder durch einen Insektenstich; die Infektion dehnt sich mehr oder weniger schnell aus und zeigt sich hauptsächlich an den Organen, die zur Zeit des ersten Eindringens noch nicht entwickelt waren, d. h. in den Organen, die sich nach der Inokulation aus den Knospen entwickeln.

2. Natur des Virus.

Borrel macht das „Virus" von verschiedenen Tierkrankheiten und das Virus des „Bacteriophagen" sichtbar mittels einer Superfärbung, in Gestalt einer großen Zahl von sehr kleinen, aber scharf begrenzten und recht homogenen Körnchen. Diese mikroskopische Beobachtung „orientiert dieUntersuchungen, spricht nicht für einen Protozoen, sondern für ein Virus, ähnlich den schon beschriebenen und bekannten Viren." Ledingham hat vor kurzem gezeigt, daß die runden Körnchen von $^1/_5$ μ Durchmesser, die die am Pockenvirus krankenden Zellen charakterisieren, wirklich die Keime der Krankheit darstellen: „Eine sorgfältige Untersuchung

wird nicht verfehlen, diese Elementarkörperchen in den Zellen der verschiedenen Viruskrankheiten der Tiere und der Pflanzen zu zeigen.“

Die Superfärbung nach Borrel hat uns die Möglichkeit gegeben, in den Geweben von mosaikkranken Tabakpflanzen Körperchen zu zeigen, die homolog den von Borrel in den Geweben der viruskranken Tiere beschriebenen Körperchen sind: Epidermisfragmente werden von ent-

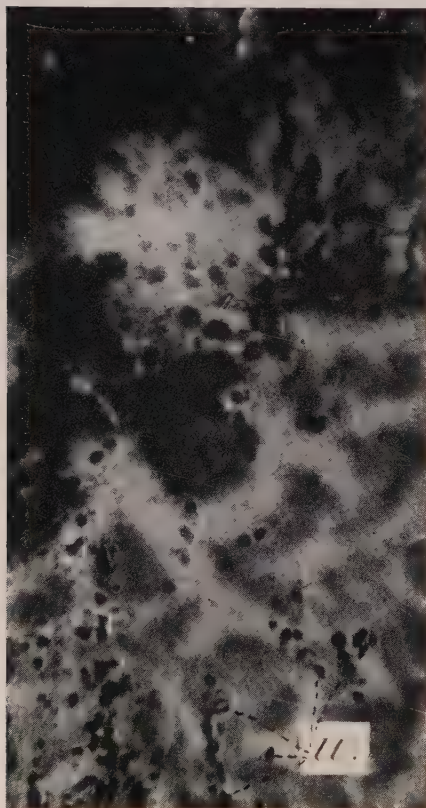


Abb. 1.
u = Granulationen (Körnchen). Entnommen von mosaikkranken Epidermiszellen von *Nicotiana tabacum*. Superfärbung.



Abb. 2.
Mikrophotographie des Chondrioms einer mosaikkranken Epidermiszelle von *Iris tingitana*.

färbten Stellen aus Tabakblättern herausgerissen, in Meves Flüssigkeit eingetaucht und gleich nachher zwischen zwei Glasscheiben zerdrückt. Nach achttägiger Fixierung wird gewaschen, 6 Stunden lang mit Eisentannat gebeizt und mittels Ziels Carbol-Fuchsin gefärbt. Auf dem fein vacuolisierten, vom zerdrückten und am Glas klebenden Zytoplasma gebildeten Grund erscheinen manche Flecken rosa oder rot, mit zahlreichen Körnchen, die auf der Mikrophotographie (Abb. 1) sichtbar sind. Wir haben

diese Körnchen in den Zerquetschungsprodukten von normalen grünen Zellen nie gefunden.

3. Die lokalen Veränderungen des Zytoplasmas der pflanzlichen, von Virus betroffenen Zellen.

Die Mosaikkrankheiten der Pflanzen verursachen auf grünen Geweben der Blätter entfärbte Flecken, deren Zellen „Inklusionen“ zeigen

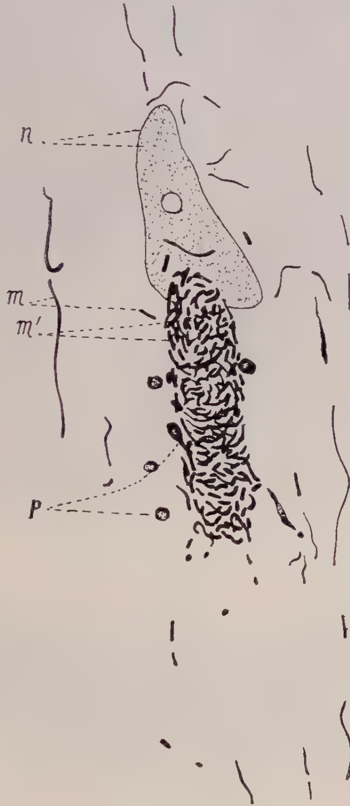


Abb. 3.
Chondriom einer mosaikkranken Epidermiszelle von *Iris tingitana*.

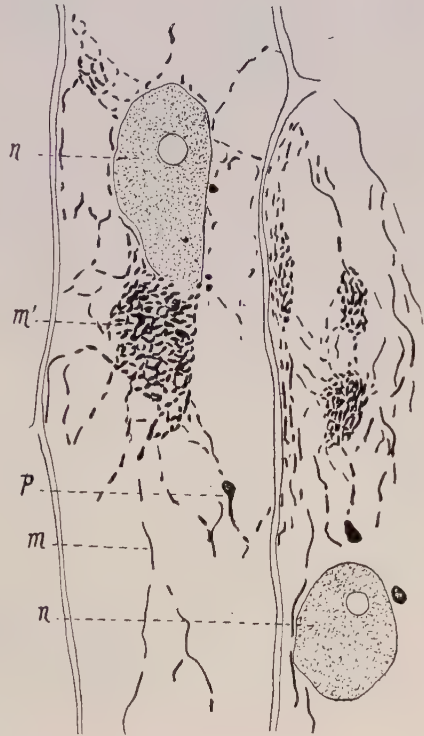


Abb. 4.
Chondriom von benachbarten Zellen.

n = Kern; p = Plastiden; m = Mitochondrien; m' = verfilzte Mitochondrien.

können, die viele Autoren als rätselhafte Parasiten betrachtet haben. Die vitale Beobachtung, die mitochondriale Technik zeigt, daß diese „Inklusionen“ eine lokale und pathologische Veränderung des Zytoplasmas und seiner Bestandteile — Vacuolen, Plastiden und Mitochondrien — darstellen.

Die Epidermis der Irisblätter eignet sich ganz besonders zum Studium der Wirkung des Virus auf Mitochondrien. Die Epidermiszellen, die die

grünen Flächen der mosaikkranken Blätter bedecken, sind gleich den Zellen der gesunden Blätter fast vollständig von einer dicken zentralen Vacuole besetzt; diese Vacuole ist von einer dünnen Schicht parietalen Zytoplasmas umhüllt, die Fettropfen, Plastiden und lange, filamentähnliche, am lebenden Material sichtbare, von Guilliermond eingehend beschriebene Mitochondrien enthalten. In den Zellen, die die entfärbten Flecken bedecken, verliert eine gewisse Zone des Zytoplasmas seine Fluidität, wird lichtbrechend und gewinnt eine große Affinität für Farbstoffe; von dieser Insel koagulierten Zytoplasmas aus erstrecken sich Plasmafäden, die in ihren Maschen ein Netz kleiner Vakuolen einschließen. Zwischen den Vacuolen, längs den Plasmabrücken, sind die Mitochondrien zahlreich, aber nur als Körnchen oder kurze Stäbchen vertreten.



Abb. 5.
Mikrophotographie des Chondrioms einer mosaikkranken Epidermiszelle von *Iris tingitana*.

Rings um diesen Herd, wo die Mitochondrien zwischen den Vakuolen liegen, strahlt das Zytoplasma zwischen größeren Vakuolen aus, ein weniger enges Netz von Plasmafäden, die lange filamentähnliche Mitochondrien enthalten, bildend. Die Mitochondrien „bei der Photosynthese untätig", teilen sich emsig, um in den zytoplasmatischen Zonen, die vom Virus betroffen sind, eine Reihe von Körnchen zu bilden; zu gleicher Zeit verteilt sich das Vacuom in eine Reihe von kleinen Vakuolen, was die Kontaktflächen Vakuolen-Zytoplasma und Vacuolen-Mitochondrien stark vergrößert.

Die Abb. 2—3 sind Mikrophotographien und Abbildungen von Epidermiszellen von Blättern von *Iris tingitana*, von Mosaik betroffen, nach Fixierung mittels Nemecs Mischung (Formol, Kaliumbichromat, Chromsäure) und Färbung mittels Säurefuchsin.

Abb. 2 zeigt eine Zelle, die kaum von der Viruskrankheit betroffen ist. Rings um den Kern und unter dem Kern bildet das Zytoplasma zwei Netze von dunkelgrauen Plasmasträngen, ringsum zahlreiche kleine Vacuolen, die hell erscheinen. Die Mitochondrien sind zahlreich, aber kurz. Weiter vom Kern entfernt bildet das Zytoplasma eine homogene Schicht, weniger färbbar, in der lange filamentähnliche Mitochondrien regelmäßig parallel zur großen Achse der Zelle geordnet liegen. Der linke Teil der Photo-

graphie zeigt Mitochondrien, die sich in Plastiden umwandeln, indem sie sich verdicken.

Abb. 3 zeigt eine Anhäufung von kurzen und verfilzten Mitochondrien m' unweit des Kernes in der Mitte der Zelle.



Abb. 6.
Mosaikkranke Zellen von *Iris tingitana*.
n = Kern; c = Inklusion; m = Mitochondrien.

Abb. 4 gibt eine Abbildung des Chondrioms anderer Zellen; es ist von kurzen, verfilzten Mitochondrien rings um den Kern, von langen Mitochondrien zerstreut im übrigen Zytoplasma, gebildet.

Abb. 5. Die Mitochondrien sind in Gruppen angehäuft, ringsum eine Gruppe von kleinen Vakuolen. Am Niveau jeder Gruppe von Mito-

chondrien bildet das Zytoplasma ein Netz von Filamenten, immer mehr gefärbt, so daß bald die Mitochondrien nicht mehr zu beobachten sind. Diese Flecken, die einer intensiveren Färbung fähig sind, bilden die „Inklusionen" oder „X-bodies", von den Autoren unter den verschiedensten Namen beschrieben (vgl. Abb. 6, c). Sie sind homolog den Inklusionen der tierischen Zellen, die eine Reaktion der Zelle gegen das intrazellulare, ultramikroskopische Virus darstellen.

4. Breaking der Tulpen.

Das „Breaking" der Tulpen ist eine infektiöse Fleckenkrankheit, die sich experimentell durch Impfung von kranken Knollen auf gesunde fortpflanzen läßt (Miß Cayley); in der Natur verbreiten sie Blattläuse: *Mycus persicae,* und weniger häufig *Macrosiphon gei* (McKenney Hughes). Es gibt zwei Arten von „Breaking":

1. Clear Breaking der roten Tulpen: In gewissen Epidermisflecken der Blütenblätter enthält jede Zelle, statt einer großen Vakuole, erfüllt von einer Anthocyanlösung, nur einzelne sehr kleine Vakuolen, die entweder Anthocyan enthalten oder davon frei sind; auf diese Weise erscheint die gelbe Farbe der subepidermalen Zellen, die reich an gelben Chromoplasten sind.

2. Self Break: die Stärke des Anthocyanpigments kann sich längs mancher Streifen steigern, die dann dunkelrot auf dem roten normalen Untergrund erscheinen. Manche Tulpenarten sind besonders der Infektion ausgesetzt; die Läuse können daraus leichter das Virus saugen, welches sie dann übertragen.

McKenney hat auch gezeigt, daß drei oder fünf Wochen genügen, damit das Virus auf den Pflanzen zum Vorschein kommt; die Blüte einer normalen und geöffneten Tulpe kann, 5 Tage nachher, die Zeichen des Self Breaks zeigen.

Literatur.

Borrel, A., Sur les inclusions de l'épithélioma contagieux. C. R. Soc. Biol. 1904.

Borrel, A., Die Ätiologie der bösartigen Geschwülste. Zeitschrift für Krebsforschung 32, 646—671, 1931.

Borrel, A., Technique bactériologique appliquée aux cultures cellulaires. Bull. Dermatologie, Nr. 9, 1930.

Dufrénoy, J., La modification locale du cytoplasme des cellules. C. R. Soc. Biol. 107, 868 - 870, 1931.

Ledingham, J. C. G., The differentiation of plant viruses. Rept. Proc. 5th Int. Cong. Bot. Cambridge 1930, p. 375.

Ledingham, British Assoc. Adv. Sc. 28, 1931.

Istituto Sieroterapico Milanese
Diretto dal Prof. S. Belfanti.
Sezione per le ricerche di batteriologia industriale ed agraria.
Dirigente: Prof. D. Carbone.

Ricerche sulla vaccinazione delle piante[1]).

Domenico Carbone ed Alessandro Kalajev[2]).

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

---

[1]) [illegible]

[2]) [illegible] D. Carbone.

Con ciascuno dei vaccini *brodo* e *feltro* si vaccinarono quaranta piantine di fagiolo, e con ognuno degli altri due, venticinque piantine; un lotto di venticinque, non vaccinate, servì da controllo. La vaccinazione fu iniziata il 24 ottobre 1931, e terminata — col consueto trapianto in liquido di Sachs — il 2 novembre: al termine della vaccinazione, era evidente la sofferenza dei lotti vaccinati, che in ordine decrescente di intossicazione si dovrebbero disporre così: *polvere* — *brodo* – *precipitato* — *feltro*. Dopo sette giorni — e cioè il 9 Novembre — sei piante del lotto *polvere*, e dieci di ciascuno degli altri, furono infettate di *toile* e poste in ambiente umido e con luce diffusa ma senza sole, a temperatura di stanza; e dopo ventiquattr'ore tutte le piante — sia vaccinate, sia di controllo — presentavano abbondante crescita del micelio sulla ferita d'infezione, con aspetto analogo a quello ch'è ritratto nelle figure da 9 a 13. Ma già quattro giorni dopo l'infezione, il micelio esterno era scomparso o molto diminuito dovunque, e, mentre le piante che in seguito ne morirono presentavano evidenti segni dell'attacco fungino ch'era in corso nell'interno dello stelo, quelle rimaste immuni avevano la ferita già in avanzata cicatrizzazione, e priva di muffa visibile (v. fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6). I risultati di questa esperienza sono riassunti nella tabella I, e risultano evidenti anche nella fig. 6, che rappresenta l'intero gruppo di piante di questa esperienza, fotografato il 16 novembre, cioè sette giorni dopo l'infezione.

Risulta da questa esperienza, che la sostanza vaccinante non è precipitabile con alcool; e sembra anche risultare che non vi sia sempre completo parallelismo fra il potere tossico ed il potere immunizzante d'un vaccino, in quanto il vaccino *precipitato*, che aveva danneggiato le piante più che quello *feltro*, non conferì loro invece un'immunità maggiore di quella del *controllo* non vaccinato, se pure non le rese invece ipersensibili. Quest'ultimo fatto deponeva contro l'ipotesi, che l'aumento di resistenza delle piante vaccinate possa derivare, non da un'azione specifica del vaccino, ma semplicemente dal fatto che le piante abbiano attraversato un periodo di sofferenza: però noi volemmo sottoporre la detta ipotesi anche ad un più diretto controllo sperimentale.

Dei fagiuoli della stessa varietà impiegata per la precedente esperienza vennero perciò fatti germinare *more solito*, e poi tenuti su sabbia bagnata con sostanze presumibilmente (6) tossiche (acido solforico, caffeina, acido benzoico, acido salicilico, tutti all'un per mille in acqua distillata, ma con aggiunta di potassa caustica fino a neutralità al tornasole per l'acido benzoico, ad alcalinità pel salicilico). Un altro lotto di piante ebbe invece le estremità delle radici immerse per circa venti secondi in acqua bollente; altri due lotti si tennero per controllo, su sabbia bagnata con acqua comune. Tutti i lotti trattati erano di venticinque piante; dei controlli, uno di venticinque e l'altro di venti.

Le piante trattate con acido solforico e con scottatura delle radici, ed il loro controllo, furono bagnate poi ogni giorno con acqua e vennero passate in liquido di Sachs otto giorni dopo il trattamento: le *scottate*, che naturalmente avevano emesso nuove radici laterali, apparivano molto sofferenti, le altre normali. (fig. 7 e 8.) Tre giorni dopo il trapianto in Sachs, tutte le piante *scottate*. e cinque per ciascuno degli altri lotti, furono infettate al solito modo con *toile* e poi tenute in ambiente umido.

Pei gruppi *caffeina*, *acido salicilico*, *acido benzoico*, l'inaffiamento con le dette sostanze fu invece ripetuto ogni giorno per sei giorni: poi queste piante, risciacquate, e così il relativo gruppo di *controllo* non intossicato, furono passati in cristallizzatori con sabbia bagnata con acqua comune, e di qui, dopo altri due giorni, nei soliti bicchierini con Sachs: altri due giorni dopo una parte delle piante d'ogni lotto fu infettata con *toile*, e l'altra parte fu lasciata senza infezione, ponendole poi tutte assieme nel medesimo ambiente umido. Al termine del trattamento coi tossici, i lotti si sarebbero potuti così disporre, in ordine decrescente di sofferenza: *caffeina, acido salicilico, acido benzoico, controllo.* In tutte le piante si ebbe nettissimo, dopo 24 ore, quel primo stadio d'attecchimento del micelio che abbiamo già visto verificarsi sempre allorchè l'ambiente è abbastanza umido, verosimilmente per crescita saprofitica della *toile* in quel poco di linfa che geme dalla ferita d'infezione; attecchimento che stava a dimostrare che i veleni assorbiti in precedenza dalle piante non ne avevano attossicato la linfa in modo da renderla microbicida (fig. 9, 10, 11, 12, 13).

I risultati di tutta l'esperienza sono raccolti nella tabella 2, dalla quale risulta evidente che la precedente sofferenza della pianta non ne ha aumentata la resistenza all'infezione, ma l'ha, se mai, diminuita; e ne risulta pure che dall'intossicazione e dalla scottatura le piantine si erano tutte rimesse bene, sicchè nessuna è morta per causa di questi maltrattamenti.

Trarre delle decisive conclusioni da queste sole esperienze sarebbe forse eccessivo; ma è certo ch'esse depongono, insieme alle precedenti di questo Laboratorio, a favore del concetto che anche la vaccinazione delle piante sia un fatto vitale e specifico. Pel primo asserto milita, infatti, la constatazione che lo sviluppo iniziale del micelio fungino avviene tanto nelle piante vaccinate come in quelle di controllo; mentre a favore del secondo depone l'esito negativo di tutta la seconda esperienza.

Tecnica.

1.° Preparazione dei vaccini.

a) Coltivazione della *toile*.

La *toile* è stata coltivata per venti giorni (15 settembre—5 ottobre 1931) all'ambiente nelle solite fiasche appiattite di brodo-malto[1]).

[1]) Il brodo-malto si prepara come segue: Si mettono, a freddo, gr. 100 di malto macinato in un litro d'acqua distillata. Si tiene per cinque ore in bagno-maria fra 45°

b) Vaccino *brodo.*

Il liquido delle culture di cui al paragrafo precedente è raccolto, filtrato per carta, rifiltrato per candela Chamberland e distribuito sterilmente in fialette di vetro da 10 cmc. che sono state sterilizzate già chiuse da un capo con tappo di sughero, e che, dopo riempite, si chiudono alla fiamma dall'altro capo, rinforzando inoltre la precedente chiusura col rivestire la tappatura a sughero con una vernice di cellulosa detta *capsulina.*

c) Vaccino *feltro.*

Nel collo di ciascuna delle fiasche di cultura, dopo sgocciolatone bene via il liquido, si mette un grosso batuffolo di cotone idrofilo imbevuto d'etere etilico; si chiudono con tappo di sughero, e si mettono diritte con la bocca in su. Dopo circa venti ore, dai feltri fungini è uscito parecchio liquido, che si raccoglie in una bevuta. Si estraggono i feltri, che si schiacciano in un torchietto, lasciandoli circa due ore sotto pressione. Si uniscono il liquido della bevuta e quello di torchiatura, si filtrano per carta e poi per candela Chamberland, e si distribuiscono sterilmente in fialette di vetro ad una sola bocca, da 5 cmc., sterili, che si saldano poi alla fiamma.

d) Vaccino *polvere.*

Il micelio di cui si è fatta la spremitura descritta in c) viene disteso in strato sottile ed essiccato a 37° C., poi è polverizzato in mortaio.

e) Vaccino *precipitato.*

Diciassette giorni dopo la preparazione, 10 cmc. di vaccino *feltro* sono addizionati di circa tre volumi d' alcool a 96°. Lentamente si forma un precipitato fioccoso. Si centrifuga, si sospende il deposito in alcool a 96°, si ricentrifuga, si secca per 4 ore a 37° C., si riprende con 10 cmc. d'acqua distillata, si lascia 24 ore in ghiacciaia, si separa per decantazione da una piccola parte rimasta indisciolta e subito si usa.

2.° Coltivazione e trattamento delle piante di fagiuolo

(tutte le operazioni si fanno alla luce diffusa, generalmente presso le finestre di una stanza rivolta a nord).

I semi di fagiuolo, della varietà "Fagiuolo rampicante per baccellini dei colli del Lario" della ditta De Coppet di Milano, sono tenuti su sabbia umida, in cristallizzatori chiusi, fino a che abbiano emessa la radichetta, od anche fino a che quest'ultima abbia raggiunto la lunghezza di due o tre centimetri.

Per la vaccinazione, un certo numero di semi così germogliati sono posti in cristallizzatori senza coperchio, contenenti uno strato di un paio

e 65° C., poi si filtra per carta, e si raccoglie il filtrato in un pallone. Questo si scalda per un'ora in autoclave ad un'atmosfera e mezza; si filtra per carta, si distribuisce, e si sterilizza per 25 minuti ad un'atmosfera.

di centimetri di sabbia (previamente lavata con acqua e sterilizzata a secco), inumidita con acqua comune: si ha cura che la punta delle radichette tocchi la sabbia o vi si affondi un poco. In ciascun cristallizzatore, del diametro di circa 20 cm., si mettono così da venti a quaranta piantine[1]). Poi i vaccini vengono versati se liquidi, cosparsi se in polvere, in modo che cadano sopra ed intorno alla radichetta di ciascuna piantina; dopodichè ogni giorno s'innaffia con acqua distillata. I *controlli* sono trattati in ugual maniera ma senza aggiunta di vaccino.

Trascorso il tempo stabilito per la vaccinazione, le piantine si sciacquano, anche per liberarle dalla sabbia, e si passano: se abbastanza sviluppate, nei soliti bicchierini, con tappo di sughero forato al centro e tagliato secondo un raggio, contenenti liquido di Sachs[2]); se poco sviluppate, in cristallizzatori con sabbia inumidita con liquido di Sachs dove sono innaffiate nei giorni successivi con acqua distillata, e dai quali in seguito si portano in bicchierini come sopra. Nei detti bicchierini si ripristina poi, man mano, il livello con acqua distillata.

Pel *trattamento con acido solforico*, le piantine germogliate si portano su sabbia inumidita con H_2SO_4 all'1 per mille, bagnandole nei giorni successivi con acqua distillata, e poi si prosegue come sopra.

Pel trattamento con *caffeina, acido salicilico, acido benzoico,* la sabbia è inumidita con le soluzioni delle dette sostanze, e con queste è poi ogni giorno innaffiata. Finito il trattamento, le piantine (compreso il controllo che s'era bagnato con acqua comune) sono lavate e passate su sabbia inumidita con acqua comune; dopo due giorni, da questa si portano nel liquido di Sachs come sopra.

La *scottatura delle radici* si fa prendendo la piantina con una pinza pei cotiledoni, ed immergendo la radice, per uno o due centimetri, in acqua in viva ebullizione, per la durata di venti secondi, dopo di che le piantine sono portate in cristallizzatori con sabbia inumidita d'acqua comune. Si prosegue poi come per le piante trattate con acido solforico.

3.⁰ Infezione delle piante di fagiuolo.

Con un ago da dilacerazione, d'acciaio, passato alla fiamma, si prende un po' di micelio da una cultura giovane di *toile* in provettone d'agar-malto[3]) inclinato a becco di clarino. Poi si punge la pianta (già montata sul bicchierino come si è detto) nel fusto, fra le inserzioni dei cotiledoni; si prolunga l'incisione in basso, spostando in senso verticale tutto l'ago, e

---

[1]) Quando, nel presente lavoro, si parla di lotti di meno di venti piantine ciascuno, ciò significa che le altre piante dello stesso lotto sono state utilizzate per esperienze in altre direzioni, tuttora inedite perchè non ancora completate.

[2]) Composizione del liquido di Sachs: Acqua di fonte cmc. 1000, Nitrato potassico gr. 1, Solfato di magnesio gr. 0,4, Fosfato tricalcico gr. 0,5, Cloruro ferrico gocce III.

[3]) Preparato *more solito* dal brodo-malto.

si ritira quest'ultimo, facendo in modo che il micelio rimanga dentro alla ferita così praticata.

Le piante infettate sono poi messe in ambiente umido, a temperatura ambiente; a tale scopo abbiamo adoperato, sia un barilozzo di vetro con coperchio, sia un piccolo termostato (spento) con porta di vetro incoloro, sia un'incubatrice da seme bachi anch'essa con sportelli di vetro. Nei detti ambienti si metteva, comunque, una capsula Petri aperta, contenente bambagia inumidita con acqua comune. Di tanto in tanto, però, gli ambienti stessi erano lasciati aperti per qualche tempo, per impedire che la condensazione di un'eccesiva quantità di umidità danneggiasse troppo le piante.

Zusammenfassung.

In einer ersten Versuchsreihe wurde nachgewiesen, daß das vakzinierende Vermögen von nach verschiedenen Methoden hergestellten „Toile"-Extrakten Unterschiede aufweist, die im Zusammenhang mit der Herstellungstechnik stehen und nicht mit ihrer Toxizität streng parallel laufen. Eine solche Tatsache spricht gegen die Annahme, es sei die Resistenzerhöhung der vakzinierten Bohnenpflänzchen nur mit einem überstandenen Leidenszustand in Einklang zu bringen.

Zur Erforschung dieser letzten Hypothese wurde eine zweite Versuchsreihe angestellt, aus welcher hervorgeht, daß auf verschiedene Art mißhandelte Bohnenpflänzchen (Keimung bei Gegenwart von Schwefelsäure, Koffein, benzoesaurem und salicylsaurem Kalium; Verbrühen der Wurzel mit heißem Wasser) einer „Toile"-Infektion gegenüber nicht widerstandsfähiger sind als die Kontrollpflanzen, sondern im Gegenteil eine größere Empfänglichkeit aufweisen.

In sämtlichen Pflanzen der beiden Versuchsreihen (vakziniert oder intoxikiert oder unbehandelt) entwickelt sich anfangs der Schimmelpilz; erst später verschwindet das Mycelium und es heilt die Wunde, nur bei den vakzinierten Pflanzen. Alle diese Daten sprechen zugunsten der Annahme, daß die vakzinale Immunität bei Pflanzen eine vitale, spezifische Erscheinung ist.

Opere citate.

(1) Carbone, D. e Arnaudi, C.: *L'immunità nelle piante.* Monografie dell'Istituto Sieroterapico Milanese. Milano (1930).

(2) Carbone, D.: *L'immunité chez les plantes.* Ier Congrès international de Microbiologie. Paris (1930).

(3) Carbone, D.: *La vaccinazione delle piante* Atti del 3° Congresso Nazionale di microbiologia. Milano (1931) e (in francese) Bollettino della sezione italiana della Società internazionale di microbiologia, fasc. VII—VIII (Luglio-Agosto 1931).

(4) Carbone, D.: *La vaccinazione delle piante.* 2e Congrès international de Pathologie comparée. Paris (1931) In corso di stampa.

(5) Jarach, M., *Sul meccanismo dell'immunità acquisita attiva nelle piante.* Phytopathologische Zeitschrift, Bd. IV, H. 3 (1932).

(6) Ciamician, G. e Ravenna, C.: *Sul contegno di alcune sostanze organiche nei vegetali.* Gazzetta chimica italiana, A. XLVIII, parte I^a, pag. 253 (1918).

Tabella 1.

Trattamento (in parentesi, N° delle piante trattate)	Piante morte per infezione da toile (in parentesi, piante seccate[1])						°/₀ Piante morte per toile	Piante seccate
	15 Novembre	21 Novembre	23 Novembre	24 Novembre	25 Novembre	30 Novembre		
Brodo (10)	0	2	1	0	4 (1)	2	90	10
Feltro (10) . . .	1	1	0	0	3 (2)	3	80	20
Precipitato (10) . .	4	0	3	1	1 (1)	—	90	10
Polvere (6) . . .	0	0	0	0	1 (3)	2	50	50
Controllo (10) . . .	4	1	0	0	1 (3)	1	70	30

[1]) L'esperienza è continuata fino a che, per le condizioni artificiose in cui le piante si vennero a trovare dopo la scomparsa dei cotiledoni, e forse anche per l'eccessiva secchezza dell'aria dovuta all'attivamento del riscaldamento della stanza coi termosifoni, le piante sopravvissute a l'infezione vennero a morire per essiccamento delle foglie.

Tabella 2.

Trattamento (in parentesi, N° delle piante trattate)	Data dell'inizio e del termine del trattamento	Data infezione	Piante morte per toile (in parentesi, piante seccate[1])											In totale piante °/₀	
			Novembre 1931						Dicembre 1931						
	Novembre	Novembre	21	23	24	26	28	30	1	2	3	9	10	Morte per toile	Seccate
Acido solforico (5) .	2— 9	13	2	0	0	1	0	0	0	1 (1)	—	—	—	80	20
Scottatura radici (20)	2	13	3	1	3	0	4	1	0	2 (6)	—	—	—	70	30
Controllo del primo gruppo (5) . . .	—	13	1	1	0	0	0	0	0	(3)	—	—	—	40	60
Caffeina (13) . . .	10—16	20	0	0	2	0	0	0	2	1	1	4 (3)	—	78	22
Acido benzoico (11)	10—16	20	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2	4 (3)	72	28
Acido salicilico (12)	10—16	20	0	0	1	0	0	0	2	2	0	4 (1)	2	91	9
Controlli infettati del secondo gruppo (12)	10 16	20	0	0	0	0	0	3	1 (2)	2	1 (3)	—	—	58	42
Controlli non infettati del secondo gruppo															
a) Caffeina (6) . .	10—16	—												0	100
b) A. benzoico (5) .	10—16	—												0	100
c) A. salicilico (5) .	10—16	—												40[2])	60
d) Nulla (5) . . .	10—16	—												0	100

[1]) Come alla nota della tabella 1.

[2]) Per infezione dalle piante infette contigue.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich.
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann.

Untersuchungen über den Einfluß der Narkose auf die Pilzempfänglichkeit der Pflanzen.

Von

Antanas Minkevičius, Kaunas (Litauen).

Mit 14 Abbildungen.

Inhalt: 1. Einführung. — 2. Theoretisches über die Narkose und Literaturbesprechung. — 3. Methodisches. — 4. Versuche mit *Alternaria brassicae* auf Blumenkohl: a) Versuche mit Chloroformnarkose; b) Versuche mit Äthernarkose; c) Versuche mit Alkoholnarkose. — 5. Versuche mit *Uromyces appendiculatus* auf *Phaseolus vulgaris*: a) Versuche mit Chloroformnarkose; b) Versuche mit Äthernarkose; c) Versuche mit Alkoholnarkose. — 6. Schlußbetrachtungen. — 7. Zitierte Literatur.

1. Einführung.

Den Anlaß zu dieser Arbeit gaben einige wenige Untersuchungen über die Wirkung der Narkose auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Pilzinfektionen. Sie mögen hier kurz wiedergegeben werden.

Salmon (1905) ist es gelungen, junge Gerstenpflanzen *(Hordeum sativum)*, die gewöhnlich unempfänglich sind für *Erysiphe graminis* vom Weizen, durch 2 bis 22stündiges Eintauchen in 10%igen Alkohol (2%iger Alkohol blieb noch wirkungslos), oder durch 1 bis 2 minutenlange Einwirkungen von Chloroformdämpfen in geringem Maße mit *Erysiphe graminis tritici* zu infizieren. Ebenfalls bewirkte Stakman (1915) bei hochgradig rostwiderstandsfähigen Getreidesorten durch leichte Behandlung mit Äther oder Chloroform eine künstliche Empfänglichkeit derselben für *Puccinia graminis.*

Reed und Cooley (1912) vermochten bei ihren Versuchen auf unter optimalen Bedingungen aufgewachsenen, gesunden Spinatpflanzen *(Spinacia oleracea)* eine Infektion mit *Heterosporium variabile* nicht zu erzielen; dagegen ist dies ohne weiteres gelungen, nachdem die Pflanzen 5 bis 10 Minuten lang mit Chloroformdämpfen behandelt worden waren.

Bolle (1924) setzte mit *Alternaria brassicae* infizierte *Brassica oleracea*-Pflanzen unter einer Glasglocke, in welche ein Uhrglas mit Alkohol gegeben wurde, der Alkoholnarkose aus und bekam schon nach einer Woche normale Infektionsflecken, die sonst, d.h. ohne solche Narkose, auf denselben

Brassica-Sorten meistens erst nach drei Wochen auftraten. Nach dem gleichen Verfahren konnte Bolle bisweilen auch mit saprophytischen Schwärzepilzen wie *Alternaria tenuis* Infektionsflecken hervorbringen.

Mit den oben erwähnten Resultaten stehen teilweise in Widerspruch die kürzlich von Volk (1931) ausgeführten Untersuchungen. Roggenpflanzen, die vor der Infektion mit Dämpfen einer Konzentration von 0,2 ccm Äther auf 1 l Luft 24 Stunden lang narkotisiert und nachher mit *Puccinia dispersa* infiziert wurden, zeigten eine größere Widerstandsfähigkeit gegen den genannten Rostpilz als die Kontrollpflanzen. Auch die Einwirkung von Ätherdämpfen in einer Konzentration von 0,01 ccm auf 1 l Luft während der Inkubationszeit hat „keine deutliche Beeinflussung, jedenfalls nicht eine Verminderung der Resistenz" feststellen lassen. Dagegen ergaben die Versuche, die er mit fakultativen Parasiten *Phoma betae* auf Rüben, *Cladosporium fulvum* und *Phytophthora infestans* auf Tomaten vorgenommen hat, gerade umgekehrte Resultate. Auf den 24 Stunden lang mit 0,2 ccm Äther auf 1 l Luft narkotisierten und nachher infizierten Rübenpflanzen waren 100 % erfolgreicher Beimpfungen, dagegen auf den nichtnarkotisierten Kontrollpflanzen nur 60 %. Junge, in normalen Wachstumsbedingungen sich befindliche Tomaten mit *Phytophthora infestans* zu infizieren war überhaupt nicht gelungen; auf den 24 Stunden lang mit 0,2 ccm Äther auf 1 l Luft behandelten Tomaten dagegen traten die Infektionsstellen schon nach zwei Tagen nach der Infektion auf und entwickelten sich rasch weiter, obwohl es nicht zu einer Fruktifikation des Pilzes kam. Bei der Beimpfung der Tomate mit *Cladosporium fulvum* bewirkte vorangehende 24stündige Äthernarkose eine Abkürzung der Inkubationszeit um 2 bis 3 Tage im Vergleich zu den nichtnarkotisierten Kontrollexemplaren.

Alle obenerwähnten, größtenteils beiläufig vorgenommenen Untersuchungen tragen neben ihrem rein wissenschaftlichen Interesse den Gedanken in sich, daß die Narkose in Zukunft in der Pflanzenpathologie eine Anwendung finden könnte, und zwar in erster Linie für die weitere theoretische Erforschung der Biologie der pflanzenbewohnenden Pilze, in der noch weite unbearbeitete Gebiete vorhanden sind.

Der Zweck der in der vorliegenden Arbeit niedergelegten Untersuchungen ist, den Einfluß der Narkose auf die Beziehungen zwischen Wirtspflanze und Parasit planmäßig weiter zu verfolgen. Dabei ist es uns klar, daß in all den Fragen und Vermutungen, die auf dem Gebiete der Narkoseanwendung in der Pflanzenpathologie auftreten, Zurückhaltung geboten ist. Die meisten von ihnen müssen zurzeit unberücksichtigt bleiben, weil sie vorerst zu vag erscheinen; deshalb werden auch die Vermutungen, die im folgenden angeführt sind, über den Rahmen von Andeutungen nicht hinausgehen.

Die Arbeit ist auf Anregung von Herrn Prof. Dr. E. Gäumann im Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich 1930—1932 durchgeführt worden.

Ergebenen Dank schulde ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. Gäumann, für die Anregung zu dieser Arbeit, für seine stete Förderung und Teilnahme. Ebenfalls spreche ich meinen herzlichen Dank aus Herrn dipl. ing. agr. Joh. Anliker, Assistent an dem Institut für spez. Botanik, für manche Ratschläge und Hilfe in der Durchführung dieser Arbeit, ferner Herrn Prof. Dr. E. Baur und Herrn A. Schibli für ihre Mithilfe bei der Zusammenstellung der für die Versuche nötigen Apparatur und Herrn Obergärtner O. Riethmann für seine Mithilfe bei der Heranzucht der Versuchspflanzen.

2. Theoretisches über die Narkose und Literaturbesprechung.

In der praktischen Medizin wird unter Narkose meist eine reversible Lähmung des Zentralnervensystems oder der peripheren Nerven und ihren Endigungen verstanden. Im allgemeinen hat die Narkose eine viel weitere Bedeutung: nicht nur auf die Zellen des Nervensystems erstreckt sich ihre Wirkung, sondern auf jede lebendige Zelle des menschlichen, tierischen und pflanzlichen Organismus.

Winterstein (1926) definiert die Narkose und die Narkotika mit folgenden Worten: „Die Narkose ist ein durch chemische Agenzien hervorgerufener Zustand allgemeiner Verminderung des Reaktionsvermögens der lebendigen Substanz, dessen Intensität innerhalb gewisser Grenzen sich im gleichen Sinne verändert, wie die Konzentration der ihn bedingenden Agenzien. Die Stoffe, deren Hauptwirkung in der Herbeiführung dieses Zustands besteht, bezeichnen wir als Narkotika." Hier muß eine schon länger bekannte Tatsache erwähnt werden, daß dem Eintritt der Verminderung des Reaktionsvermögens vielfach ein Stadium gesteigerter Lebenstätigkeit vorangeht. Solche an pflanzlichen Organismen durch Narkotika verursachte Lebenstätigkeitssteigerung haben beobachtet: Traube und Rosenstein (1919) an keimender und wachsender Gerste, Warburg (1919-20) und Warburg und Negelein (1920) an Grünalgen, Weber (1921-22) an *Spyrogyren*, Mansfeld (1912) an *Cucurbita pepo*-Keimlingen, Johannsen (1906) am Flieder, Josing (1901) an *Elodea*, *Vallisneria* und anderen Pflanzen, Schröder (1908) an *Avena*-Keimlingen, Gerber (1902) an Bananenfrüchten, Kosinski (1902) an *Aspergillus niger*, Heilbronn (1914) an *Vicia faba* usw.

Der Wirkungsmechanismus der Narkose ist trotz den zahlreichen von Medizinern und Biologen vorgenommenen Untersuchungen nicht eindeutig bestimmt. Näheres über die gesamten Narkosetheorien und ihre kritische Besprechung findet man in Wintersteins Monographie: Die Narkose. Berlin. 1926.

Einige Literatur über die Narkoseuntersuchungen, von Seiten der Pflanzenpathologen herrührend, ist schon in der Einführung angegeben worden. Hier bleibt noch übrig, das von den Pflanzenphysiologen gesammelte Material über die Wirkung der Narkose kurz zu streifen, um ein etwas vollständigeres Bild über den Narkoseeinfluß auf die physiologischen Funktionen des Pflanzenorganismus zu bekommen. Dies ist um so wichtiger, als man die Wirtspflanze nicht nur als Substrat gewisser chemischer Zusammensetzung, sondern auch als einen Komplex mannigfaltiger, zweckmäßig koordinierter physiologischer Prozesse anzusehen hat, deren irgendwie geartete Störungen oder sonstige Veränderungen mehr oder weniger für den Angriff durch den Parasiten von Bedeutung sind.

a) Einfluß der Narkose auf den Stoffwechsel. Über die Wirkung der Narkose auf die Pflanzenatmung äußert sich Czapek (1920, S. 43, daneben auch ältere Literatur) auf Grund von Untersuchungen verschiedener Forscher, daß die Atmung durch kleine Dosen bzw. durch kurzdauernde Einwirkung von Chloroform oder Äther erhöht, durch große Dosen bzw. durch langdauernde Einwirkung gehemmt werde.

Von Interesse sind die Feststellungen von Elfving (1885—1886) und von Morkowine (1899; beide hier nach Kegel, 1905, zitiert), daß die Atmung eiweißreicher Keimlinge von Pflanzen, wie *Pisum*, *Phaseolus*, *Ricinus*, *Medicago*, *Vicia* durch Äther- bzw. Chloroformnarkosen erhöht wurde; dagegen zeigt Elfving, daß die Narkotisierung stärkereicher Keimlinge von *Hordeum* und *Zea* keine Atmungserhöhung bewirkte, *Morkowine*, daß die Atmung stärkereicher Getreidesamen in der Narkose eine geschwächte war. Ebenfalls hat Kegel (1905) den unterschiedlichen Einfluß der Narkose auf die stärkereichen und stärkearmen Exemplare von *Elodea canadensis* in bezug auf die Kohlensäureassimilation festgestellt: die Assimilation wurde an stärkereichen Pflanzen durch die Chloroformnarkose gehemmt, an stärkearmen dagegen erhöht.

Warburg (1919—1920) und Warburg und Negelein (1920) haben die Wirkung des Phenylurethans an einer Grünalgenart untersucht und festgestellt, daß nicht alle Lebensvorgänge dieses Organismus in gleichem Maße beeinflußt werden; 0,005 $^0/_0$ Phenylurethan beispielsweise hemmte die Assimilation dieser Grünalge um zirka 30 $^0/_0$, die Atmung dagegen wurde beschleunigt; 0,025 $^0/_0$ige Verabfolgung hemmte die Assimilation fast völlig, die Atmung wurde stark beschleunigt und erst bei 0,1 $^0/_0$iger Konzentration, wobei eine vollständige Hemmung der Assimilation eintrat, wurde die Atmung nur um zirka 50 $^0/_0$ vermindert. Ähnlicherweise wurde in einem anderen Versuch festgestellt, daß 0,013 $^0/_0$ Phenylurethan im Nitratgemisch die Kohlensäureassimilation einer Grünalge fast völlig, Extrakohlensäurebildung (die bei der Reduktion der Salpetersäure entsteht) nur um zirka 30 $^0/_0$ hemmte, die Atmung dagegen beschleunigte. Die Kohlensäureassimilation scheint demnach für die Narkose am empfindlichsten zu sein.

Verzar (1928) stellte die Empfindlichkeit der verschiedenen Lebensfunktionen von *Bacterium coli commune* für Chloroformnarkose in folgender Reihe fest: durch eine niedrigste Konzentration wurde die Reduktion, dann durch eine höhere die Gasbildung (Atmung), durch die noch höheren Indol- und Säurebildung und schließlich das Wachstum verlangsamt. Eine ähnliche Wirkung übt auch Alkohol aus. Bei *Saccharomyces cerevisiae* erwies sich ebenfalls die Atmung bzw. die Gasbildung für die Chloroformnarkose empfindlicher als die Säurebildung.

Sterns (1920) Beobachtungen, wonach eine Algenkultur *(Chlorella)* in Knopscher Lösung eine deutliche rote Fluoreszenz hervorbringt, zeigen, daß eine wässerige Chlorophylldispersion, auch nach Zusatz von Kohlehydraten, nicht fluoresziert, dagegen bei Zusatz einer kleinen Menge von Lipoiden typisch zu fluoreszieren beginnt. Die hohe Empfindlichkeit der Kohlensäureassimilation für die Narkose erklärt er folgendermaßen: Chlorophyll sei in den lebenden Zellen (deren Inhalt eine lipoide Lösung darstellt) echt molekulardispers gelöst. Demnach spielt sich der Assimilationsprozeß nicht in einem homogenen Medium ab, sondern sowohl in einer Lipoid- wie in einer Hydroidphase. Nun sammeln sich aber die oberflächenaktiven Stoffe, zu denen die Narkotika gehören, an der Grenzfläche der Lipoid- und der Hydroidphase, rufen hier irgendwie eine Blockierung hervor, sei es durch Verdrängung anderer Stoffe aus dieser Grenzfläche, sei es durch irgendwelche andere Veränderungen in derselben. Als Folge dieser Blockierung tritt eine Assimilationshemmung ein.

Die Narkose hemmt nicht nur die Assimilation der Pflanzen, sondern auch die Chlorophyllbildung. Solche Chlorophyllbildungshemmung haben Téodoresco und Coupin (1898) bei der Chloroform- und bei der Äthernarkose an etiolierten Keimlingen verschiedener Pflanzenarten *(Triticum, Lupinus, Fagopyrum* usw.) nachgewiesen, wobei festgestellt wurde, daß durch schwächere Dosen die Chlorophyllbildung nur vermindert, durch stärkere (die aber noch nicht den Grad der tödlich wirkenden hatten) vollständig gehemmt wurde. Eine Verzögerung der Chlorophyllbildung hat auch Kauffmann (1899) bei Narkosen mit Chloroform, mit Brom- und mit Aethyläther an Mais-, Gersten- und Lupinenpflanzen festgestellt.

Über den Einfluß der Narkose auf den Stickstoffwechsel der Pflanzen ist noch sehr wenig bekannt, doch besteht kein Zweifel, daß die Narkose auch hier verschiedenartige Veränderungen schafft. So hat Mothes (1926) (daneben auch ältere Literatur) festgestellt, daß in den Primärblättern der *Phaseolus*pflanzen bei der Chloroformnarkose eine beträchtliche Veränderung im Eiweißabbau, auch in der Amid-, Ammoniak- und freien Stickstoffbildung eintritt.

Schließlich sei noch auf die Untersuchungen von Kruseman (1931) hingewiesen, in denen festgestellt worden ist, daß durch 15 bis 42stündige mit 0,15 bis 0,3 %igen Chloroformlösungen vorgenommene Narkotisierung

der Blattstiele von *Phaseolus multiflorus*, eine Hemmung des Transportes der Assimilate aus den Blättern eintritt.

b) Wirkung der Narkose auf die Keimung und das Wachstum der Pflanzen. Kauffmann (1899) bezeichnete die Wirkung des Chloroforms, des Brom- und Aethyläthers auf die Keimung der Lupinensamen und der Sporen von *Penicillium glaucum* als eine hemmende, wobei sich die *Penicillium*sporen als viel widerstandsfähiger gegen ein- und dieselbe Narkotikumkonzentration erwiesen als die Samen von *Lupinus*.

Mansfeld (1912) hat in seinen Versuchen mit keimenden *Cucurbita pepo*-Samen eine Ähnlichkeit der Wirkung der Narkotika (Alkohol, Äther, Urethan) und derjenigen des CO_2-Mangels festgestellt; die Keimungsenergie wurde sowohl durch die genannten Narkotika als auch durch den CO_2-Mangel in der ersten und der zweiten Keimungsperiode (nach 98 und 146 Stunden) vermindert, in der dritten Periode (nach 270 Stunden) beschleunigt.

Schröder (1908) stellte bei *Avena*-Keimlingen unter der Einwirkung von 1—7 vol.$^0/_0$igen Ätherwassers zunächst beschleunigte, dann früher oder später, je nach der Ätherkonzentration, verzögerte Zuwachsbewegung fest. Die Wachstumshemmung, die Verzar (1928) bei *Bact. coli commune* durch Anwendung der Chloroform- bzw. Äthernarkose feststellte, wurde schon früher erwähnt.

c) Narkosewirkung auf die Reizbarkeit und auf die Bewegungen der Pflanzen haben Heckel (1876) an Drüsenhaaren von *Drosera*, Rothert (1904) an verschiedenen Mikroorganismen wie Bakterien, *Saprolegnia*-Zoosporen, *Euglena*, *Gonium* usw., Czaja (1924) an *Aldrovandia vesiculosa* festgestellt.

d) Veränderungen in der Zelle unter dem Einfluß der Narkose. Zu den Veränderungen dieser Art werden in erster Linie die Permeabilitätsänderungen der Plasmamembran und die Viskositätsänderung des Plasmas gezählt.

Lepeschkin (1911) hat z. B. eine durch die Narkose mit Chloroform bzw. Äther bewirkte Permeabilitätsverminderung der Plasmamembranen der *Spirogyra*zellen für Farbbasen und der *Tradescantia*zellen für Salpeter festgestellt. Ebenfalls fand Tröndle (1920) eine unter dem Einfluß des Chloroforms und Äthers entstandene Verminderung der Permeabilität der Plasmamembranen verschiedener Organe und Pflanzen (*Buxus*, *Acer*, *Lupinus*, *Allium* usw.) für die Aufnahme der KCl-, NaCl- und $NaNO_3$-Salze, dagegen nicht für die Aufnahme der Alkaloide.

Collander (1921) gibt bei Sulfosäurefarbstoffen an, daß ihr Eintritt in die Zellen der Kelchblätter von *Hyacinthus* durch 2 vol.$^0/_0$ igen Äther oder durch 0,5 bis 1 vol.$^0/_0$ iges Chloralhydrat stark gehemmt wurde. Smith (1923) hat die Veränderungen der Permeabilität an Zellen der

Corolla von *Ipomoea Learii* für CO_2 durch Anwendung der Chloroform- und der Äthernarkose beobachtet.

Lullies (1925) stellt auf Grund seiner Versuche mit Blattzellen von *Tradescantia discolor* fest, daß die Permeabilität derselben für Glycerin und Glykol durch die Narkotika vermindert wurde, für den Harnstoff dagegen unbeeinflußt blieb.

Außer der Verminderung der Permeabilität durch die Narkotika ist auch eine Steigerung derselben bei Verwendung größerer Narkotikadosen, besonders an tierischen Objekten, festgestellt worden (Näheres s. Höber 1926, S. 595—607).

Die Narkotika haben, soviel bis jetzt bekannt ist, die Fähigkeit, die Permeabilität der Plasmamembranen für die lipoidunlöslichen Stoffe, die auf dem physiologischen Wege in die Zelle eindringen (physiologische Permeabilität) zu beeinflussen, dagegen nicht für die lipoidlöslichen, deren Eintritt in die Zelle rein physikalisch erklärt werden kann (physikalische Permeabilität. Vgl. Höber 1926).

Ebenfalls sind Viskositätsveränderungen des durch die Narkose beeinflußten Plasmas bei mehreren pflanzlichen Objekten festgestellt worden. Schon Kauffmann (1899) beobachtete in den Zellen von *Vallisneria spiralis* bei der Einwirkung von Chloroform oder von Brom- bzw. Äthyläther eine vorübergehende Verlangsamung, bei stärkeren Konzentrationen einen völligen Stillstand der Plasmaströmung. Josing (1901) hat mit schwächeren Äther- oder Chloroformkonzentrationen eine Beschleunigung, mit stärkeren eine Hemmung der Plasmaströmung in den Zellen verschiedener Pflanzen, wie *Elodea, Vallisneria, Chara,* ferner an Staubfädenhaaren von *Tradescantia*, an Stengelhaaren von *Heracleum* usw. festgestellt. Schröter (1905) beobachtete bei seinen Versuchen mit den Schimmelpilzen *Mucor stolonifer* und *Phycomyces nitens* bei der Anwendung der Äthernarkose durchwegs keine Beschleunigung der Plasmaströmung, sondern nur eine Verzögerung.

Diese von Kauffmann, Josing und Schröter beobachteten Plasmaströmungsveränderungen sind aller Wahrscheinlichkeit nach auf die Viskositätsveränderungen des unter dem Einflusse der Narkotika stehenden Plasmas zurückzuführen.

Heilbronn (1914) nahm als Maßstab der Plasmaviskosität die Fallgeschwindigkeit der Statolithenstärke in der Zelle an und fand dabei, daß die Viskosität des Plasmas in den Zellen der Stärkescheiden von *Vicia faba* durch eine schwache Äthernarkose vermindert, durch eine starke erhöht wird. Viskositätssteigerung unter dem Einfluß der Äthernarkose wurde auch in Zellen der *Avena*-Koleoptyle und im *Reticularia*-Plasmodium konstatiert.

Weber (1921—1922 und 1922) hat auf Grund der bei der Zentrifugierung stattfindenden Chromatophorenverlagerung ebenfalls festgestellt, daß eine schwächere Äthernarkose die Plasmaviskosität der *Spirogyra*-

zellen und der Zellen von *Phaseolus*-Keimlingen erniedrigt, eine stärkere dagegen erhöht. Eine Steigerung der Viskosität des Plasmas findet auch in den ätherisierten Zellen der Epikotylen von *Phaseolus vulgaris* statt.

Außer den Permeabilitäts- und Viskositätsveränderungen können unter dem Einfluß der Narkotika auch andere bis jetzt noch wenig untersuchte Veränderungen in den Zellen stattfinden. So haben Nadson und Meisl (1926) bei der Chloroformnarkose in den Zellen von *Saccharomyces Ludwigii* sowohl wie auch von *Allium* eine ganze Reihe sukzessiver Veränderungen des Plasmas, der Chondriosomen und des Kernes festgestellt.

e) Wirkung der Narkotika auf das ruhende Plasma. Früher herrschte die Meinung, daß das Protoplasma im Ruhezustande äußerst widerstandsfähig gegen Narkotika und gegen Gifte sei. So hat beispielsweise Coupin (1899) trockene im Ruhezustande befindliche Samen von *Triticum* und von *Trifolium* bis über 4 Wochen lang in chloroform- oder ätherdampfgesättigter Atmosphäre gehalten, ohne daß dieselben ihre Keimfähigkeit vermindert hätten; dagegen haben angefeuchtete Samen (die Anfeuchtung ruft bekanntlich die Lebenstätigkeit des Plasmas hervor) von verschiedenen Pflanzenarten schon bei einer Ätherkonzentration von 3,7 ccm auf 10 l Luft ihre Keimfähigkeit verloren. Daraus schließt Coupin: „Je crois donc pouvoire conclure de ces experiences que les vapeurs anesthésiques mêmes saturées sont sans action sur le protoplasme à l'état de vie ralentie".

Spätere Untersuchungen von Schmid (1901), Kurzwelly (1903), Schubert (1909, daneben auch ältere Literatur) haben bei verschiedenen pflanzlichen Objekten, wie Samen, Sporen, trockene Moose usw., deren Plasma im Ruhezustande sich befindet, die Resistenz gegen Narkotika und gegen Gifte bestätigt. Die Ursache dieser Resistenz wurde aber nicht allein durch den Ruhezustand des Plasmas, sondern vielmehr durch die schützende Wirkung der Samenschalen bzw. Zellmembranen, die in vielen Fällen die Narkotika und die Giftstoffe langsam durchlassen, erklärt. Als Beweis dafür diente die Tatsache, daß z. B. entschälte Samen sich meistens viel weniger resistent erwiesen als ungeschälte.

Wie aus diesen kurzen Ausführungen ersichtlich sein dürfte, werden unter dem Einfluß der Narkotika in der Lebenstätigkeit des Pflanzenorganismus mannigfaltige und komplizierte Veränderungen bald in einer beschleunigenden, bald in einer hemmenden Richtung hervorgerufen. Wenn nun das Dasein der parasitischen Pilze mit der Lebenstätigkeit der Wirtspflanze eng verbunden ist, wie das besonders bei den obligaten Parasiten der Fall ist, dann dürfte der Schluß zulässig sein, daß die Veränderungen, die bei der Narkose den Lebensrhythmus der Wirtspflanze in der einen oder in der anderen Richtung verschieben, nicht ohne einen Einfluß auf den Angriff des Parasiten auf die Wirtspflanze bleiben können.

3. Methodisches.

Technische Einrichtung der Versuche. Zu Narkotisierungsversuchen benutzt man in der Botanik gewöhnlich Glasglocken. Ihre Unzulänglichkeit zeigt sich aber schon dadurch, daß bei Versuchen mit einer größeren Anzahl von Pflanzen die Sache recht umständlich wird. Weitere Nachteile der Narkose unter den Glasglocken sind die folgenden: das Narkotikum kann nicht gleichmäßig auf den ganzen Raum verteilt werden; es konzentriert sich jeweils im Ober- oder Unterraum je nach dem Narkotikum, das zur Verwendung kommt. Wenn die Pflanzen beispielsweise nicht alle gleich hoch sind, bekommen sie nicht die gleiche Narkotikummenge, was dann zu mehr oder weniger fehlerhaften Ergebnissen führen kann. Ferner kam es uns darauf an, die Wurzeln dem Einfluß des Narkotikums zu entziehen, was in einem Verfahren unter Glasglocken schwer möglich ist.



Abb. 1.
Narkosezimmer mit 6 Narkosekästen.
(Aufnahme Photogr. Institut der Eidg. Techn. Hochschule.)

Aus all diesen Gründen haben wir besondere Kästen von je zirka 1 × 1 × 0,80 m Größe aus Eternitplatten anfertigen lassen, im ganzen 6 für je 10 Versuchspflanzen; sie sind in Abb. 1 dargestellt. (Eternit ist eine Preßmasse aus Zement und Asbest.) Jeder Kasten wurde durch je eine Eternitbretterscheidewand in zwei übereinanderliegende Abteilungen geteilt, um die Wurzeln dem Einfluß des Narkotikums entziehen zu können. In die untere Abteilung wurden die Pflanzentöpfe derart gestellt, daß die oberirdischen Pflanzenteile durch die zu diesem Zwecke in den Eternit-Zwischenwänden ausgeschnittenen Löcher in die obere Abteilung — den Narkoseraum — hineinragten (Abb. 2). Die Spalten zwischen den Brettern wurden mit Gummistreifen, sämtliche Löcher mit Kork und mit einer Wachs-Vaselin-Kakaobuttermischung sorgfältig abgedichtet.

Für eine gleichmäßige Verteilung der Narkosedämpfe in den Kästen wurden diese inwendig mit elektrischen Ventilatoren versehen, die während des Versuches in Betrieb gehalten wurden.

Versuchsmaterial. Als Parasiten wurden zwei Pilzarten ausgewählt: *Alternaria brassicae* (Berk) Bolle, der ein fakultativer Parasit ist, und *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Link., ein echter obligater Parasit.

Als Wirtspflanzen für *Alternaria* wurde verwendet: *Brassica oleracea* Blumenkohl-Sorte „le Cerf“, für *Uromyces Phaseolus vulgaris* Sorte „Klosterfrauen“. *Alternaria* in Reinkultur lieferte uns das Institut für Pilzkulturen in Baarn; der Pilz wurde von uns auf dem Malzagar weiter gezüchtet und nach Bedarf vermehrt. *Uromyces appendiculatus* wurde uns aus der Anstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil geliefert, wo er im Sommer 1930 auf Bohnen erschienen war. Wir haben ihn jeweils auf frischen Bohnen von einer empfänglichen Sorte, „Graf Zeppelin“, weiter kultiviert, und in Uredosporenstadium für die Impfung benutzt.

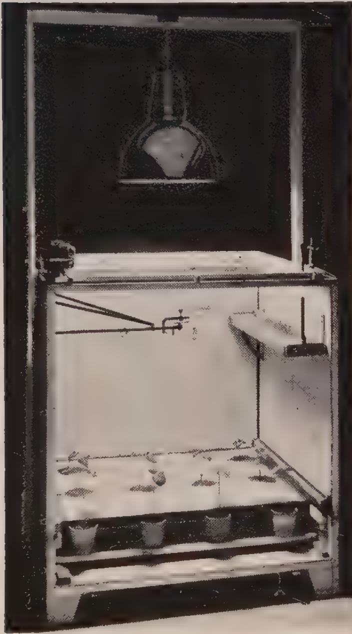


Abb. 2.
Innere Einrichtung eines Narkosekastens.
(Aufnahme Photogr. Institut der Eidg. Techn. Hochschule.)

Narkotika und ihre Dosierung. Alle Versuche wurden ausschließlich mit den Narkotika in gasförmigem Zustande ausgeführt. Es wurden verwendet Chloroform, Äthyläther und Äthylalkohol (absolut), mit denen auch auf pflanzenphysiologischem Gebiete zahlreiche Versuche ausgeführt worden sind.

Die Behandlung der Pflanzen mit dem Narkotikum wurde in der Weise ausgeführt, daß eine bestimmte, in Kubikzentimetern abgemessene Menge des flüssigen Narkotikums durch ein Glasröhrchen in ein flaches, doppelwandiges, in den Narkosekasten eingebautes Blechgefäß (Abb. 2) eingegossen wurde; zwischen die Doppelwände des Blechgefäßes wurde heißes bzw. siedendes Wasser geleitet und dadurch eine rasche Umwandlung des flüssigen Stoffes in Gasform erzielt.

Eine der schwierigsten Aufgaben war die Dosierung des Narkotikums, einmal weil keine allgemeine Narkotikumdosis für die Pflanzen vorgeschrieben ist, und dann, weil bis jetzt überhaupt keine Erklärung vorhanden ist, was Pflanzennarkose ist: ist es vorübergehende Lähmung der Atmungstätigkeit oder Störung der Assimilation oder anderer Lebensvorgänge der Pflanze. Dabei sind, wie aus der oben angegebenen Literaturbesprechung ersichtlich ist, nicht alle Lebensvorgänge des Pflanzenorganismus gegen ein- und dieselbe Narkotikumdosis gleich empfindlich. So hat in den Warburgschen Versuchen (1919) dieselbe Konzentration des Narkotikums (Phenylurethan) den Assimilationsvorgang einer Grünalge fast völlig gehemmt, dagegen die Atmung stark beschleunigt.

Unsere Versuche sind darum mit ganz willkürlichen Narkotikum-

mengen durchgeführt worden. Die Versuchseinrichtung erlaubte uns mit drei verschiedenen Konzentrationen des Narkotikums je zehn Pflanzen gleichzeitig zu behandeln. Als stärkste Konzentration wurde eine der hierfür in Betracht kommenden Grenzdosis naheliegende Menge des Narkotikums verwendet; als Grenzdosen bezeichnen wir hier solche Dosen, bei der die Pflanzen eine irreversible, zum Tode führende Schädigung zu erleiden beginnen; dieselbe haben wir für die einzelnen Versuchsreihen experimentell durch die Vorversuche approximativ festgestellt. Sie sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle 1.

Die Grenzdosen des Chloroforms, des Äthers und des Alkohols für *Brassica oleracea* und *Phaseolus vulgaris* bei verschieden lang andauernden Narkosezeiten.

Dauer der Narkose	Grenzdosis des Narkotikums in ccm auf 1 m³ Luft für *Brassica oleracea*					
	Chloroform	Temperatur °C	Äther	Temperatur °C	Alkohol	Temperatur °C
10 Minuten .	95—98	ca. 12	—	—	—	—
15 „ .	—	—	—	—	—	—
2 Stunden .	87—90	15—18	—	—	—	—
12 „ .	75—79	22—24	725—760	21—23	30—33	19—24
48 „ .	66—70	20—24	680—710	20—24	—	—
84 „ .	42—45	20—23	—	—	16—20	17—21

Dauer der Narkose	Grenzdosis des Narkotikums in ccm auf 1 m³ Luft für *Phaseolus vulgaris*					
	Chloroform	Temperatur °C	Äther	Temperatur °C	Alkohol	Temperatur °C
10 Minuten .	—	—	—	—	—	—
15 „ .	75—82	20—21	—	—	—	—
2 Stunden .	—	—	715—740	21—22	33—36	20—22
12 „ .	62—66	20—22	610—645	21 - 22	27—29	19—21
48 „ .	40—46	20—22	—	—	—	—
84 „ .	—	—	—	—	—	—

Diese Dosen gelten nur für die angegebenen Temperaturen sowie für die anderen weiter unten angeführten Außenbedigungen, unter welchen unsere Versuche ausgeführt worden sind, d. h. einer Luftfeuchtigkeit von 80—95 % und einer Lampenbelichtung von 1000 Watt für jeden Kasten.

Die weiten Schwankungen der Empfindlichkeit innerhalb der bei der Grenzdosis verwendeten Mengen des Narkotikums, d. h. innerhalb der Mengen des Narkotikums, bei denen bald keine tödliche Wirkung der Narkose bemerkbar wird, bald alle Versuchspflanzen eingehen, sind nicht nur oder nicht so sehr aus der jeweils möglichen Ungenauigkeit der Abmessungen der Dosen zu erklären, als vielmehr aus der in Erfahrung gebrachten Tatsache, daß Pflanzen der gleichen Art, unter gleichen Außenbedingungen, gleicher Behandlungsart stark individuelle Unterschiede in

der Empfindlichkeit gegenüber dem Narkotikum zeigen. So wurden z. B. bei der Behandlung von Bohnenpflanzen während einer Narkosedauer von 15 Minuten mit 75 ccm Chloroform auf 1 cbm Luft von zehn Pflanzen zwei irreversibel geschädigt, bei der Behandlung während der gleichen Zeitdauer mit 82 ccm Chloroform auf 1 cbm Luft von zehn Pflanzen sieben getötet, die übrigen drei vermochten sich weiter zu entwickeln. Bei einer Konzentration mit weniger als 75 ccm Narkotikum unter gleichen Bedingungen blieben alle zehn Pflanzen am Leben, bei einer mit über 82 ccm Narkotikum ausgeführten Narkose gingen alle zehn Pflanzen ein.

Die weiteren Abstufungen der Narkotikumkonzentration wurden folgendermaßen vorgenommen: zunächst wurde als nächstschwächere Dosis eine um 25 % niedrigere und als schwächste Dosis eine zehnmal niedrigere Konzentration ausprobiert als die Höchstkonzentration betrug. Da aber die letztere Konzentration keine von den Kontrollpflanzen merkbar abweichende Wirkung mehr zeigte, wurde in den späteren Versuchen jeweils jede nächstschwächere Konzentration um $^1/_3$ kleiner genommen als die nächststärkere.

Bei den langandauernden Versuchen (von 12 Stunden an) wich die Konzentration des Narkotikums ziemlich stark von der ursprünglich gegebenen Menge ab. Die jeweilige Stärke der Narkotikumskonzentration wurde in einigen Probeversuchen in verschiedenen Zeitintervallen mittels eines von Herrn Prof. Dr. E. Baur uns freundlich zur Verfügung gestellten Gasinterferometers festgestellt. Die Differenzergebnisse sind aus folgender Tabelle zu ersehen:

Tabelle 2.

Konzentrationsabnahme der Narkotika im Narkosekasten bei zunehmender Zeitdauer.

Zeitintervalle	Chloroform	Äther
Ursprüngliche Menge des Narkotikums in ccm auf 1 cbm Luft	72,0	670
Nach 15 Minuten " " " " " " 1 " "	69,7	663
" 1 Stunde " " " " " " 1 " "	66,7	649
" 2 Stunden " " " " " " 1 " "	63,3	624
" 4 " " " " " " " 1 " "	58,8	588
" 8 " " " " " " " 1 " "	50,2	541
" 24 " " " " " " " 1 " "	42,6	426
" 48 " " " " " " " 1 " "	38,3	262

Die interferometrischen Messungen sind in von Pflanzen entleerten Kästen ausgeführt worden. Die Konzentrationsverminderung ist zum Teil durch die Absorbtion des Narkotikums in den Abdichtungsmitteln (Gummistreifen, Schiffskitt, Wachs-Vaselin-Kakaobuttergemisch), vielleicht auch im Eternit, zum größten Teil aber durch das Herausdiffundieren durch die kleinen, unsichtbaren Ritzen zu erklären.

Äußere Bedingungen. Sämtliche Versuche wurden bei möglichst gleichen Außenbedingungen ausgeführt, d. h. bei gleicher Belichtung,

gleicher Temperatur und gleicher Luftfeuchtigkeit. Tageslicht eignete sich nicht wegen der jeweils unterschiedlichen Intensität in den verschiedenen Jahres- bzw. Tageszeiten. Es wurde künstliches Licht benutzt und zwar 1000-Watt-Osram-Nitra-Lampen, je eine für jeden Kasten in einem Abstand von zirka 0,5 m oberhalb der oberen Glasscheibe des Kastens. Bei den 12 Stunden und noch kürzer dauernden Versuchen wurden die Pflanzen ständig belichtet, bei längeren Versuchen (24 Stunden und mehr) wurden 12 Stunden am Tage belichtet und während der Nacht 12 Stunden im Dunkel gelassen.

Schwieriger war es bei der Verwendung der obengenannten Lampen in den Kasten eine konstante Temperatur zu erhalten. Trotzdem über sämtliche Glasdeckscheiben der Versuchskästen dauernd fließendes Kühlwasser geleitet wurde, stieg die Temperatur in den Kästen sowohl wie im ganzen Versuchsraum dermaßen, daß erst beim Öffnen der Türe bzw. des Fensters die erforderliche Höhe und annähernde Gleichmäßigkeit der Temperatur zu erhalten war. Bei den längere Zeit (24 Stunden und mehr) dauernden Versuchen schwankte die Temperatur meistens zwischen 18 und 23° C (manchmal sank die Temperatur für kurze Zeit bis auf 17° C bzw. stieg bis auf 24° C), bei kürzeren Versuchen schwankte sie zwischen 19 und 22° C. Einige der ersten Versuche, die in einem damals noch nicht heizbaren Versuchsraume des neuerbauten Versuchshauses zur Winterzeit vorgenommen wurden, sind bei einer Temperatur von 13 bis 16° C ausgeführt worden.

Der Feuchtigkeitsgehalt der Luft in den Kästen wurde bei der Ausführung der Narkose immer zwischen 75—95 %, als dem für die Auskeimung der Pilzsporen günstigsten, gehalten. Dieser hohe Feuchtigkeitsgrad wurde dadurch erzielt, daß zunächst Boden und Wände des Versuchsraumes mit Wasser bespritzt und daß die offengewesenen Kästen erst nach einiger Zeit geschlossen wurden. Der Boden der Kästen selber wurde gleichfalls leicht mit Wasser benetzt. Zur Temperatur- und Feuchtigkeitskontrolle stand in einem der Kasten ein Thermohygrograph, der von Zeit zu Zeit mit einem Psychrometer verglichen und je nach Bedarf korrigiert wurde.

Behandlung der Pflanzen. Für jeden Versuch wurden 60 Pflanzen der jeweils in Frage kommenden Art ausgewählt, die in gleichen Töpfen, unter gleichen Bedingungen aufgewachsen, gleichen Alters waren und möglichst gleiche Entwicklung zeigten. Sie wurden auf 6 Kästen zu je 10 Pflanzen verteilt. In drei der Kästen wurden die Pflanzen mit für jeden Kasten verschieden starken Narkotikumdosen behandelt und nachher infiziert (oder umgekehrt, erst infiziert, sodann narkotisiert); die übrigen drei Kästen dienten als Kontrolle: im ersten Kasten wurden die Pflanzen weder narkotisiert noch infiziert, im zweiten Kasten wurden sie narkotisiert, aber nicht infiziert und im dritten wurden sie infiziert, aber nicht narkotisiert.

Die Infektion wurde bei den Versuchen einesteils kurz vor der Narkose, anderenteils sofort nach der Beendigung der Narkose ausgeführt, so daß im ersten Falle Parasit und Wirtspflanzen gleichzeitig, im anderen nur die Wirtspflanzen narkotisiert wurden. Für die Infektion wurde eine Sporensuspension in Leitungswasser vorbereitet, mit der je zwei Blätter jeder Pflanze mittels eines Mundzerstäubers möglichst gleichmäßig beiderseits bestäubt wurden. Da die Blätter von *Brassica* eine Wachsschicht besitzen, wurde der Suspension 0,1 % Gelatine hinzugefügt, damit die Suspensionströpfchen besser an den Blättern haften blieben. Bei Bohnen war ein solcher Zusatz nicht nötig. Kontrollpflanzen, die nicht infiziert werden sollten, wurden mit reinem Wasser, *Brassica* mit Wasser unter Zusatz von 0,1 % Gelatine bestäubt. Nach der Narkose wurden die narkotisierten und die Kontrollpflanzen in die für die Infektion möglichst optimalen Bedingungen (feuchte Luft, entsprechende Temperatur) in eigens konstruierte Inkubationskammern gebracht.

Die Inkubationskammern wurden einfach aus den alten mit Glasscheiben versehenen Fensterflügeln in Form von zwei langen Kästen zusammengestellt. Die eine war ca. 3,75 m lang, 0,60 m breit und 0,60 m hoch, die andere 2,50 m lang, 0,60 m breit und 0,60 m hoch. Sie wurden in einer Abteilung des Treibhauses auf den mit Torfmull gefüllten Treibbeeten aufgestellt; diese mit Torfmull gefüllten Beete dienten zugleich als Boden für die Inkubationskammern. Das wichtigste in diesen Kammern waren je zwei entlang jedes Kastens seicht in den Torfmull eingegrabene mit elektrischen Heizspiralen versehene Heizröhren. Die Heizröhren waren mit einer Steuerung und einem Thermoelement verbunden, so daß eine konstante Temperatur im Innern der Kammern nach demselben Prinzip wie in Thermostaten erhalten werden konnte, jedoch mit dem Unterschied, daß die Amplitude der Temperaturschwankungen in unseren Inkubationskammern wegen der vereinfachten Konstruktion derselben etwas größer war als dies in Thermostaten der Fall zu sein pflegt, nämlich beinahe 2° C. Für unseren Zweck war das aber ohne jegliche praktische Bedeutung.

Die Pflanzen wurden auf vier einige Zentimeter über dem Boden der Inkubationskammern erhobene Bretter in gleichen Abständen nebeneinander aufgestellt. Alle 60 Pflanzen ein und desselben Versuches kamen in die gleiche Inkubationskammer, um gleiche Entwicklungsbedingungen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Belichtungsintensität usw.) zu haben. Mit einem auf der Sonnenseite der Inkubationskammerabteilung des Treibhauses aufgehängten weißen Tuche wurden die Pflanzen vor den direkten Sonnenstrahlen geschützt. Die Inkubationskammer mit ihrer Einrichtung ist aus Abb. 3 ersichtlich.

Die Wirkung der Narkose auf die Wirtspflanzen wurde nach der Größe der Zunahme der Blattfläche beurteilt; zu diesem Zweck wurden je

2 Blätter jeder Pflanze vor dem Versuch (kurz vor der Narkose) und nach dem Versuch (d. h. nachdem die Krankheitssymptome erschienen waren) gemessen; die Zunahme der Blattfläche wurde sodann in Prozente, bezogen auf die ursprüngliche Blattfläche berechnet. Bei der Blattflächenmessung wurden zuerst die genauen Umrisse des Blattes auf Papier nachgezogen und diese Fläche dann mit einem Planimeter nachgemessen.

Die Beurteilung des Erkrankungsgrades der Pflanzen erfolgte hauptsächlich nach der Zahl der entstandenen Infektionsstellen, wobei auch die



Abb. 3.
Inkubationskammer. a Steuerung, b Thermoelement, cc Heizröhren mit den zur Steuerung führenden Stromleitungen.
(Aufnahme Photogr. Institut der Eidg. Techn. Hochschule.)

anderen Merkmale, wie Größe der Infektionsstellen, Zeit des Erscheinens derselben (Inkubationszeit), Sporenbildung usw. mitberücksichtigt wurden.

Um den Erkrankungsgrad auch statistisch ausdrücken zu können, wurde die Zahl der Infektionsstellen pro 1 cm^2 des Blattes berechnet. Zwei Möglichkeiten waren dazu vorhanden: entweder die entstandenen Infektionsstellen auf die ursprünglichen, d. h. vor der Narkose gemessenen Blattflächen, oder auf die endgültigen, d. h. nach Beendigung des Versuches gemessenen zu beziehen. Das erstere Verfahren erschien als das genauere und zwar deshalb, weil die Pilzsporen bei den für die Keimung zusagenden Außenbedingungen schon einige Stunden nach der Infektion auskeimten, insofern sie sich überhaupt als keimfähig erwiesen. Eine bestimmte Anzahl von Infektionsstellen war demnach von Anfang an vorhanden, obgleich sie mit bloßem Auge noch nicht wahrzunehmen waren; ihre Zahl ist vom

späteren Wachstum des Blattes unabhängig. Was aber das Wachstum der Blätter anbetrifft, so ist es in vielen Fällen bei narkotisierten und nichtnarkotisierten Pflanzen sehr ungleich, wie später aus dem speziellen Teil zu ersehen sein wird. So kamen bei *Brassica oleracea* Fälle vor, wo die Zunahme der Blattfläche der narkotisierten Pflanzen am Schluß des Versuches zweimal größer war als bei den nichtnarkotisierten. Hätte man die Zahl der Infektionsstellen auf 1 cm^2 dieser endgültigen Blattfläche errechnet, so hätte es vorkommen können, daß stärker befallene Blätter als schwächer befallen aufgefaßt worden wären und umgekehrt: weil dieselbe Anzahl der Infektionsstellen, verteilt auf die größere Fläche, relativ kleiner erschienen wäre als die gleiche Anzahl, verteilt auf eine kleinere Fläche.

Schließlich durfte man die Berechnung der Infektionsstellen, bezogen auf die ursprüngliche Größe des Blattes, auch darum als die genauere annehmen, weil die Dichtigkeit der Infektionsstellen auf der Blattfläche (bei sonst gleichen Bedingungen) von der Menge der auf das Blatt gebrachten Sporen abhängt. Dabei sind wir geneigt, als sicher anzunehmen, daß den in der Suspension sich befindlichen Sporen bei der Bestäubung im Durchschnitt auf allen Pflanzen und allen Blättern eine gleichmäßige Verteilung zukam.

Beim weiteren Wachstum der Blätter kann aber diese Verteilung der Sporen stark variieren und zwar um so stärker, je größer die Differenz der Blattflächezunahme bei den verschieden behandelten (narkotisierten und nichtnarkotisierten) Pflanzen ist. Dieser Variation der Sporenverteilung entsprechend ändert sich auch die spätere Bildung der Infektionsstellen. Würden also dieselben auf die endgültige Blattfläche berechnet, so könnte man nicht unterscheiden, ob die Differenzen der Dichtigkeit der Infektionsstellen der mit Narkotikum behandelten und der nichtbehandelten Pflanzen auf die Behandlung bzw. Nichtbehandlung zurückzuführen seien oder ob sie auf die bei dem ungleichen Wachstum der Blätter entstandene ungleichmäßige sekundäre Sporenverteilung (der späteren Infektionsstellen) beruhe.

4. Versuche mit *Alternaria brassicae* auf Blumenkohl.

Versuche mit *Alternaria brassicae* auf Blumenkohl wurden nur mit einer Sorte vorgenommen, nämlich mit der Sorte „le Cerf“, wie schon erwähnt wurde. Als Versuchsexemplare dienten junge Pflanzen mit 4 bis 5 entwickelten Blättern. Von jeder Pflanze kamen für die Behandlung nur je zwei Blätter in Betracht, weil alle Blätter einzeln zu behandeln, d. h. die Fläche auszumessen, zu infizieren und die Infektionsstellen zu zählen zuviel Zeit in Anspruch genommen hätte. Als erstes Blatt wird in den Tabellen immer das oberste bezeichnet, d. h. das jüngste, frisch aus der Knospe entwickelte, und als zweites das nächstältere. Bei den

Vorversuchen wurde beobachtet, daß die beiden Blätter wegen des ungleichen Alters und der ungleichen Entwicklung gegen den *Alternaria*befall sich nicht gleich verhalten; darum ist die Zahl der Infektionsstellen für jedes der beiden Blätter in den Tabellen gesondert angegeben. Ein Unterschied des Einflusses der Narkose auf das Wachstum der beiden Kategorien der Blätter, d. h. einerseits der jüngeren und anderseits der älteren Blätter war nicht festzustellen, deshalb ist die Zunahme der Fläche beider Blätter zusammen genommen ausgerechnet worden.

Die Versuche sind im Frühjahr begonnen worden und dauerten von Ende März bis Ende Juli 1931. Diese Zeit ist gerade recht günstig für die Infektion, weil *Alternaria brassicae* ein wärmeliebender Pilz ist. Die Temperatur in den Inkubationskammern wurde in der Nacht und an sonnenscheinlosen Tagen ständig auf 20 bis 22 ° C gehalten; an sonnigen Tagen stieg sie um die Mittagszeit bis auf 35 ° C. Durch Anfeuchtung des Bodens der Kammern wurde die Luft stets feucht gehalten (zirka 90 bis 95 % relative Feuchtigkeit). Unter solchen Bedingungen zeigten sich die ersten Infektionsstellen auf den Blättern schon am dritten Tag nach der Infektion als kleine dunkle Pünktchen. Nach fünf bis sechs Tagen nach der Beimpfung waren sämtliche Infektionsstellen deutlich herausgebildet. Nach dieser Frist wurden sie ausgezählt und zugleich wurden auch die zweiten Blattflächenmessungen vorgenommen.

Das weitere Verhalten der Infektionsstellen richtete sich je nach den Bedingungen: wurden die Pflanzen aus den Inkubationskammern herausgenommen und in das Treibhaus gestellt, so unterblieb die weitere Entwicklung der Flecken gänzlich (vermutlich wegen der zu geringen Luftfeuchtigkeit); wurden sie aber in den Inkubationskammern weiter belassen, so vergrößerten sich die Flecken weiter, so daß manche von ihnen einen Durchmesser von einigen mm aufwiesen. Nach ca. zwei Wochen begannen sich schon einzelne Sporen zu bilden, nach einigen weiteren Tagen nahm auf diesen großen Flecken die Sporenbildung spontan zu. Um diese Zeit herum begannen die betreffenden Blätter, besonders die älteren, mehr oder weniger gelb zu werden und abzufallen. Die Mehrzahl der Infektionsstellen blieb dagegen nach Erreichung einer meist nur geringen Größe in ihrer Entwicklung stehen (manche wurden nicht größer als kleine Pünktchen) und entwickelten auch bis zum Abfallen des Blattes keine Sporen.

Alle von uns vorgenommenen Narkoseversuche mit *Alternaria brassicae* als Parasit und Blumenkohl als Wirtspflanze zerfallen in drei Gruppen: a) Versuche mit Chloroform-, b) mit Äther- und c) mit Alkoholnarkose. Die meisten Versuche wurden der größeren Sicherheit wegen dreimal wiederholt.

a) Versuche mit Chloroformnarkose.

Sämtliche Ergebnisse dieser Versuche, d. h. die Wirkung der Chloroformnarkose sowohl auf den Befall des Blumenkohls durch *Alternaria* als

auch auf das Wachstum der Blätter sind in den Tabellen 3—10 zusammengestellt. Es sei zunächst die Wirkung der Chloroformnarkose auf den Befall des Blumenkohls durch den Pilz besprochen.

Betrachtet man zunächst die Wirkung der kurzandauernden Chloroformnarkose, so sieht man, daß eine 10minutige Einwirkung des Chloroforms (Tabelle 3) auf den Befall der Pflanzen durch den Pilz noch keinen merkbaren Einfluß zeigt. Auch die bei einer 2stündigen Chloroformnarkose in bezug auf den Befall durch den Pilz entstehenden Unterschiede zwischen den mit verschieden starken Konzentrationen narkotisierten und den nichtnarkotisierten Pflanzen liegen ausschließlich innerhalb des Bereiches des mittleren Fehlers (Tabelle 4 und 5).

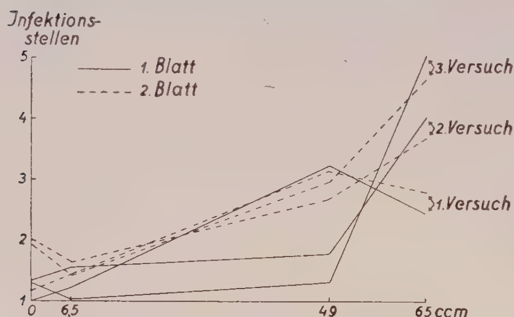


Abb. 4.
Anzahl der Infektionsstellen pro qcm des Blattes auf nichtnarkotisierten und 48 Stunden lang mit drei verschiedenen Chloroformkonzentrationen nach der Infektion narkotisierten Blumenkohlpflanzen. 0 = ohne Narkosebehandlung.

Bei 12stündiger Dauer der Narkose läßt sich in der Mehrzahl der Fälle die Tendenz zu einer größeren Empfänglichkeit für Pilzbefall der narkotisierten Pflanzen gegenüber den nichtnarkotisierten erkennen, wie das aus den Tabellen 6—8 ersichtlich ist; diese Tendenz, die übrigens im Vergleich mit dem mittleren Fehler ganz gering ist, zeigen nur die mit stärksten Konzentrationen (72 und 53 ccm) behandelten Pflanzen.

Der Unterschied im Pilzbefall zwischen den vor der Infektion (Tabelle 6) und den nach der Infektion (Tabelle 7 und 8) narkotisierten Pflanzen ist kaum nennenswert. Im ersteren Falle sind die Differenzen etwas geringer als in den beiden anderen, aber wenn der mittlere Fehler berücksichtigt wird, so ist es nicht ausgeschlossen, daß es sich hier um einen Zufall handelt.

Die Beobachtungen über die Inkubationszeit, über die Größe der Infektionsstellen und über die Sporenbildung ließen bei 10minutiger, 2- und 12stündiger Narkose keine Unterschiede zwischen den narkotisierten und den Kontrollpflanzen erkennen.

In Tabelle 9 und Abb. 4 sind die Ergebnisse der 48stündigen Narkose zusammengefaßt.

Die Neigung der mit stärkster Dosis narkotisierten Pflanzen stärker durch den Parasiten befallen zu werden als die nichtnarkotisierten Parallelexemplare, tritt hier viel deutlicher hervor als bei der 12stündigen Narkose, und die Differenz ist außerhalb der Grenzen des mittleren Fehlers; dagegen schwanken die Unterschiede zwischen den mit den zwei nächst-

Tabelle 3.

Einfluß der zehnminutigen Chloroformnarkose (vor der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
				1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	11,9 ± 1,81	9,9 ± 1,24	14,8 ± 1,60	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 92 ccm Chloroform Ohne Infektion	16,6 ± 1,86	9,1 ± 0,49	16,4 ± 1,30	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	13,1 ± 1,68	9,0 ± 1,13	9,1 ± 1,20	6,40 ± 0,81	6,21 ± 0,43	5,42 ± 0,56	8,17 ± 0,68	9,98 ± 1,27	7,78 ± 0,84
4. Narkose mit 9,2 ccm Chloroform Infiziert	12,4 ± 1,44	8,0 ± 0,59	12,0 ± 0,83	5,06 ± 0,58	4,21 ± 0,42	5,41 ± 0,72	9,98 ± 0,77	6,70 ± 0,87	8,48 ± 0,68
5. Narkose mit 70 ccm Chloroform Infiziert	18,1 ± 2,19	9,3 ± 0,61	16,1 ± 1,30	4,94 ± 0,63	5,93 ± 0,57	5,28 ± 0,71	7,66 ± 0,61	11,01 ± 0,68	9,95 ± 0,87
6. Narkose mit 92 ccm Chloroform Infiziert	11,1 ± 2,13	6,6 ± 0,72	13,9 ± 0,98	6,24 ± 1,11	5,88 ± 0,49	6,92 ± 0,71	9,40 ± 0,63	8,48 ± 1,28	9,30 ± 0,73

Tabelle 4.

Einfluß der zweistündigen Chloroformnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
				1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	17,4 ± 1,87	16,7 ± 2,06	11,7 ± 0,84	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 83 ccm Chloroform Ohne Infektion	32,1 ± 3,03	27,5 ± 2,57	24,8 ± 0,93	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	18,3 ± 2,21	15,8 ± 1,32	7,6 ± 0,51	1,25 ± 0,27	1,37 ± 0,25	2,29 ± 0,34	3,73 ± 0,71	6,15 ± 0,61	4,34 ± 0,64
4. Narkose mit 8,3 ccm Chloroform Infiziert	17,0 ± 2,35	12,0 ± 1,23	6,5 ± 0,82	0,71 ± 0,16	0,70 ± 0,14	3,91 ± 0,51	3,15 ± 0,42	6,75 ± 1,81	4,98 ± 0,61
5. Narkose mit 62 ccm Chloroform Infiziert	26,9 ± 2,60	24,2 ± 2,40	20,3 ± 1,41	1,47 ± 0,40	0,85 ± 0,18	4,92 ± 0,64	5,42 ± 0,86	4,39 ± 0,87	2,83 ± 0,60
6. Narkose mit 83 ccm Chloroform Infiziert	29,8 ± 2,22	24,7 ± 2,42	16,9 ± 1,40	1,40 ± 0,27	0,74 ± 0,21	5,01 ± 0,87	5,46 ± 0,78	4,27 ± 0,34	3,38 ± 0,40

Tabelle 5.

Einfluß der zweistündigen Chloroformnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
				1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	15,0 ± 2,71	10,6 ± 1,11	15,3 ± 2,48	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 48 ccm Chloroform Ohne Infektion	27,2 ± 2,73	25,4 ± 1,95	12,3 ± 3,64	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	9,5 ± 1,20	9,0 ± 0,45	31,8 ± 4,34	5,78 ± 0,42	4,68 ± 0,52	4,45 ± 0,56	4,52 ± 0,54	6,11 ± 0,96	5,83 ± 0,83
4. Narkose mit 4,8 ccm Chloroform Infiziert	7,8 ± 1,11	8,5 ± 0,97	12,0 ± 2,17	4,19 ± 0,39	3,34 ± 0,61	4,40 ± 0,60	4,66 ± 0,51	4,35 ± 0,54	4,45 ± 0,40
5. Narkose mit 36 ccm Chloroform Infiziert	16,3 ± 1,83	13,9 ± 1,14	15,9 ± 1,90	4,56 ± 0,53	5,44 ± 0,91	5,48 ± 0,52	5,25 ± 0,39	5,45 ± 0,58	4,25 ± 0,75
6. Narkose mit 48 ccm Chloroform Infiziert	13,8 ± 1,50	17,3 ± 1,20	20,6 ± 1,61	5,91 ± 0,86	6,13 ± 0,43	5,56 ± 0,46	5,37 ± 0,33	4,09 ± 0,44	4,29 ± 0,81

Tabelle 6.

Einfluß der zwölfstündigen Chloroformnarkose (vor der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
				1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	23,7 ± 3,23	19,5 ± 1,90	22,5 ± 2,62	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 72 ccm Chloroform Ohne Infektion	42,0 ± 4,60	27,2 ± 0,95	38,2 ± 2,11	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	23,1 ± 4,40	13,1 ± 1,30	21,8 ± 2,49	0,67 ± 0,15	0,63 ± 0,14	2,90 ± 0,45	2,16 ± 0,42	4,76 ± 0,60	3,80 ± 0,37
4. Narkose mit 24 ccm Chloroform Infiziert	38,9 ± 3,68	24,7 ± 2,78	32,2 ± 1,82	0,63 ± 0,12	0,90 ± 0,19	2,94 ± 0,38	1,92 ± 0,31	5,12 ± 0,40	3,64 ± 0,52
5. Narkose mit 48 ccm Chloroform Infiziert	34,3 ± 3,98	22,9 ± 1,39	37,1 ± 2,48	0,85 ± 0,20	0,76 ± 0,15	2,53 ± 0,34	1,95 ± 0,14	6,30 ± 0,56	4,17 ± 0,48
6. Narkose mit 72 ccm Chloroform Infiziert	32,3 ± 2,38	24,7 ± 1,70	33,5 ± 2,49	0,77 ± 0,26	0,91 ± 0,11	3,39 ± 0,62	2,04 ± 0,29	5,15 ± 0,45	3,54 ± 0,34

schwächeren Konzentrationen narkotisierten und den Kontrollpflanzen wiederum im Bereiche des mittleren Fehlers.

An den im dritten Versuch behandelten Pflanzen wurden weitere Beobachtungen gemacht und folgendes festgestellt: Auf den infizierten Blättern der starknarkotisierten Pflanzen (mit 65 ccm Chloroform) entwickelten sich in 10 Tagen nach der Unterbrechung der Narkose mehrere Infektionsstellen zu Flecken von beträchtlicher Größe (manche bis zu 5 mm im Durchmesser), auf denen sich bald schon zahlreiche junge Sporen bildeten. Auf den Blättern der Pflanzen, die mit der nächstschwächeren Dosis (49 ccm) behandelt wurden, entwickelten sich ebenfalls viele Infektionsstellen zu größeren Flecken, aber die Sporenbildung war hier noch gering. Auf den nichtnarkotisierten und schwachnarkotisierten Pflanzen erreichten die größten Infektionsstellen höchstens einen Durchmesser von 2—3 mm; es konnten aber auf ihnen keine Sporen gefunden werden.

Zu einem ganz unerwarteten Ergebnis hat der Versuch mit 84stündiger Narkose geführt. Analog der Wirkung der 12 bzw. 48stündigen Narkose konnte man erwarten, daß noch länger narkotisierte Pflanzen auch einen größeren Unterschied im Befall durch den Pilz gegenüber den nichtnarkotisierten zeigen würden. In unserem Versuche war das aber nicht der Fall. Die Anzahl der gebildeten Infektionsstellen ist, wie aus Tabelle 10 ersichtlich ist, fast gleich groß sowohl auf den narkotisierten wie auf den Kontrollpflanzen. Selbst die stärkste Narkotikumdosis (45 ccm), unter deren Einwirkung die Pflanzen so geschwächt worden sind, daß nach zwei Wochen von allen 10 Pflanzen nur noch einige Blätter am Leben blieben, hat keine Steigerung des Befalls ausgeübt.

Die weitere Entwicklung der Infektionsstellen wurde zwei Wochen nach der Unterbrechung der Narkose geprüft. Es wurde der Durchmesser von je zehn der größten Infektionsstellen auf jedem Blatte gemessen und deren durchschnittliche Größe errechnet. Es ist aber auch hier keine Regelmäßigkeit vorhanden: auf den ersten (d. h. den jüngsten) Blättern wurden die Infektionsstellen bei nichtnarkotisierten und schwachnarkotisierten Pflanzen kleiner als bei mittelstark narkotisierten; auf den zweiten (d. h. den älteren) Blättern sind die Verhältnisse gerade umgekehrt. Auf den wenigen noch am Leben gebliebenen Blättern der starknarkotisierten Pflanzen wurden einige große Infektionsstellen, 3 bis 6 mm im Durchmesser gebildet.

Das starkabweichende der Ergebnisse der 84stündigen Narkose im Vergleich zu denen der 12- und 48stündigen ist zur Zeit nicht zu erklären; doch ist wahrscheinlich, daß die kürzer andauernde Narkose (12 und 48 Stunden) auf die Virulenz des Pilzes anders wirkt als die langandauernde (84 Stunden); möglicherweise ist diese Wirkung auch auf die Empfänglichkeit der Wirtspflanze für den Parasiten anders.

Tabelle 7.

Einfluß der zwölfstündigen Chloroformnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
				1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	16,0 ± 1,87	16,4 ± 2,06	8,9 ± 1,32	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 53 ccm Chloroform Ohne Infektion	27,7 ± 2,59	35,5 ± 2,91	29,7 ± 2,81	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	13,5 ± 1,10	14,7 ± 1,58	7,3 ± 1,04	1,19 ± 0,24	1,55 ± 0,35	3,55 ± 0,27	4,00 ± 0,40	2,97 ± 0,40	3,46±0,50
4. Narkose mit 5,3 ccm Chloroform Infiziert	17,3 ± 1,97	15,5 ± 1,48	7,4 ± 1,11	1,26 ± 0,23	1,67 ± 0,22	3,65 ± 0,60	3,98 ± 0,64	1,63 ± 0,26	2,24±0,29
5. Narkose mit 40 ccm Chloroform Infiziert	23,5 ± 1,42	28,8 ± 1,62	23,2 ± 2,36	2,47 ± 0,50	1,68 – 0,29	4,63 ± 0,32	4,31 ± 0,30	4,37 ± 0,68	3,15±0,43
6. Narkose mit 53 ccm Chloroform Infiziert	22,6 ± 1,74	27,6 ± 2,16	20,8 ± 1,40	3,10 ± 0,42	1,92 ± 0,28	5,30 ± 0,65	4,77 ± 0,44	4,26 ± 0,41	3,70±0,51

Tabelle 8.

Einfluß der zwölfstündigen Chloroformnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Versuch		2 Versuch		3. Versuch	
				1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	22,3 ± 2,42	35,9 ± 4,10	15,3 ± 1,69	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 72 ccm Chloroform Ohne Infektion	34,4 ± 2,36	57,6 ± 2,62	29,9 ± 2,14	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	13,5 ± 2,80	23,7 ± 2,59	12,4 ± 1,31	1,82 ± 0,17	1,59 ± 0,25	6,02 ± 0,91	6,61 ± 1,13	8,35 ± 0,70	8,02±0,75
4. Narkose mit 24 ccm Chloroform Infiziert	31,6 ± 2,33	35,7 ± 3,43	30,6 ± 2,53	2,78 ± 0,41	1,50 ± 0,14	5,30 ± 0,53	5,32 ± 1,02	10,40 ± 0,82	8,19 ±0,53
5. Narkose mit 48 ccm Chloroform Infiziert	26,6 ± 1,06	40,6 ± 3,40	22,0 ± 1,69	2,28 ± 0,37	1,35 ± 0,24	5,45 ± 0,53	5,37 ± 0,40	8,87 ± 0,82	8,64±0,87
6. Narkose mit 72 ccm Chloroform Infiziert	25,9 ± 1,39	35,7 ± 2,26	20,8 ± 1,28	2,57 ± 0,46	2,17 ± 0,24	5,41 ± 0,64	6,06 ± 0,85	12,65 ± 0,95	10,68±0,69

Wir gehen über zur kurzen Besprechung der Wirkung der Chloroformnarkose auf die Wirtspflanze selbst. Wie schon im methodischen Teil gesagt worden ist, benutzen wir als Maßstab der Wirkung der Narkose auf die Pflanze die Zunahme der Blattfläche, die in Tabellen in Prozent, bezogen auf die ursprüngliche, d. h. auf die vor der Narkose gemessene Blattfläche, berechnet ist.

Betrachtet man zunächst die Wirkung der zehnminutigen Chloroformnarkose, deren Ergebnisse in Tabelle 3 zusammengefaßt sind, so sieht man noch keine Regelmäßigkeit in der Zunahme der Blattfläche der narkotisierten sowie der nichtnarkotisierten Pflanzen.

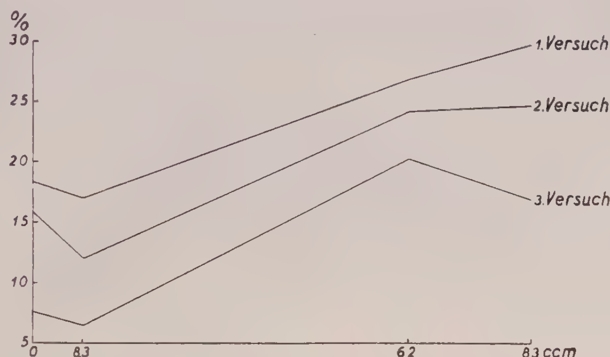


Abb. 5.
Zunahme der Blattfläche in Prozent bei nichtnarkotisierten und zwei Stunden lang mit drei verschiedenen Chloroformkonzentrationen narkotisierten Blumenkohlpflanzen.
0 = ohne Narkosebehandlung.

Die zweistündige Narkose, die, wie wir schon oben erwähnt haben, noch keine Wirkung auf den Befall der Pflanzen ausübt, beeinflußt dagegen das Wachstum der Blätter ganz deutlich, was aus den Tabellen 4 und 5 zu ersehen ist. Die Zunahme der Blattfläche ist nämlich bei den mit stärkeren Konzentrationen (83 und 62 ccm) narkotisierten Pflanzen zwei bis dreimal größer als bei den nichtnarkotisierten und den schwachnarkotisierten [1]. Graphisch ist dies in Abb. 5 dargestellt, wo auf der Abszisse die Narkotikumkonzentration, auf der Ordinate die Zunahme der Blattfläche in Prozent aufgetragen ist.

Die Wirkung der zwölfstündigen Chloroformnarkose auf das Wachstum der Blätter (Tabelle 6, 7 und 8) ist im großen ganzen genommen eine ähnliche wie die der zweistündigen: das Wachstum der Blätter der

[1]) Von allen sechs dabei vorgenommenen Versuchen bildet eine Ausnahme nur ein einziger Versuch (Tabelle 5, Versuch 3), wo die nichtnarkotisierten Pflanzen eine größere Blattflächezunahme zeigen im Vergleich zur narkotisierten. Hier handelt es sich aber wahrscheinlich um eine von uns begangene Ungenauigkeit entweder bei der Auswahl der Pflanzen oder beim Messen der Blattfläche.

Tabelle 9.

Einfluß der 48 stündigen Chloroformnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
				1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	14,7 ± 1,31	17,7 ± 1,92	17,0 ± 1,46	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 65 ccm Chloroform Ohne Infektion	23,4 ± 1,78	22,5 ± 0,83	25,9 ± 0,88	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	14,6 ± 1,45	14,0 ± 0,86	15,8 ± 2,34	1,00 ± 0,15	1,17 ± 0,20	1,34 ± 0,26	2,02 ± 0,41	1,30 ± 0,13	1,95 ± 0,21
4. Narkose mit 6,5 ccm Chloroform Infiziert	17,0 ± 1,67	20,6 ± 2,05	15,0 ± 1,59	1,21 ± 0,25	1,44 ± 0,38	1,55 ± 0,30	1,64 ± 0,23	1,04 ± 0,13	1,44 ± 0,23
5. Narkose mit 49 ccm Chloroform Infiziert	17,5 ± 1,12	17,3 ± 1,06	17,2 ± 1,66	3,24 ± 1,12	3,15 ± 0,70	1,79 ± 0,49	2,68 ± 0,73	1,32 ± 0,24	2,97 ± 0,17
6. Narkose mit 65 ccm Chloroform Infiziert	22,5 ± 1,46	19,7 ± 1,59	18,0 ± 1,05	2,45 ± 0,54	2,81 ± 0,56	4,06 ± 0,77	3,69 ± 0,45	5,05 ± 1,10	4,67 ± 0,48

narkotisierten Pflanzen ist in der Regel deutlich beschleunigt im Gegensatz zu dem der Kontrollpflanzen. Ein Unterschied in der Wirkung der zweistündigen Narkose besteht nur darin, daß die Beschleunigung bei der zwölfstündigen Narkose ihr Maximum bei den mittelstark-, in manchen Versuchen sogar bei den schwachnarkotisierten Pflanzen erreicht, dagegen liegt in den zweistündigen Narkoseversuchen der Höhepunkt in der Regel bei den starknarkotisierten Pflanzen (in Versuchen, wo die schwächste Chloroformdosis im Vergleich zur stärksten eine zehnmal kleinere verwendet wurde, zeigt die Zunahme der mit dieser kleinsten Menge narkotisierten Pflanzen noch keine sichere Beschleunigung im Verhältnis zu den Kontrollpflanzen). Die typische Wirkung der 12stündigen Chloroformnarkose auf die Zunahme der Blattfläche ist graphisch in Abb. 6 dargestellt.

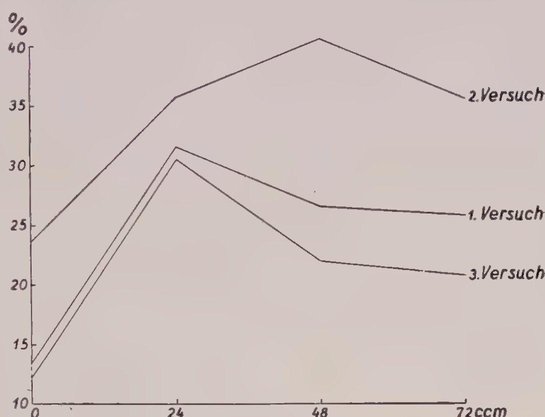


Abb. 6.
Zunahme der Blattfläche in Prozent bei nichtnarkotisierten und zwölf Stunden lang mit drei verschiedenen Chloroformkonzentrationen narkotisierten Blumenkohlpflanzen. 0 = ohne Narkosebehandlung.

Tabelle 10.

Einfluß der 84 stündigen Chloroformnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen je qcm		Durchmesser der Infektionsstellen in mm	
		1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	33,3±5,22	—	—	—	—
2. Narkose mit 30 ccm Chloroform Ohne Infektion	39,0±1,52	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	26,5±2,63	5,66±0,64	6,47±0,65	0,84±0,08	1,98±0,15
4. Narkose mit 15 ccm Chloroform Infiziert	45,6±2,09	6,25±0,38	5,34±0,58	0,64±0,04	0,85±0,04
5. Narkose mit 30 ccm Chloroform Infiziert	29,2±2,67	6,60±0,44	6,26±0,55	1,00±0,08	0,83±0,05
6. Narkose mit 45 ccm Chloroform Infiziert	9,6±2,07	5,43±0,38	5,67±0,66	—[1])	—

[1]) Die mit dieser Konzentration narkotisierten Pflanzen waren zur Zeit der Infektionsstellenausmessung so stark geschädigt, daß auf allen zehn Pflanzen nur noch einige Blätter heil geblieben waren.

Bei langandauernder Narkose, nämlich bei der 48 und 84stündigen wirkt neben dem das Wachstum der Blätter beschleunigenden Faktor vermutlich noch ein hemmender. Bei der 48stündigen Chloroformeinwirkung sieht man noch eine wachstumsbeschleunigende Tendenz der Narkose, die Differenzen zwischen der Zunahme der Blattfläche der narkotisierten und der der nichtnarkotisierten Pflanzen liegen jedoch durchschnittlich im Bereiche des mittleren Fehlers (Tabelle 9).

Der wachstumshemmende Faktor tritt bei der 84stündigen Narkose noch deutlicher hervor als bei der 48stündigen, was aus Tabelle 10 und Abb. 7 ersichtlich ist.

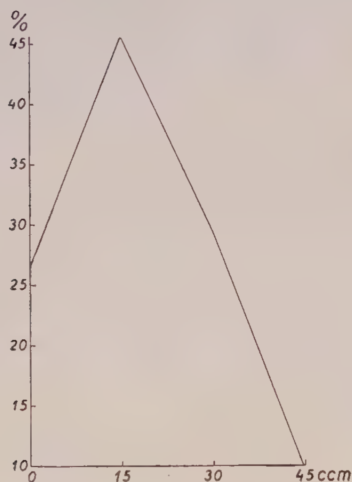


Abb. 7.
Zunahme der Blattfläche in Prozent der nichtnarkotisierten und der 84 Stunden lang mit drei verschiedenen Chloroformkonzentrationen narkotisierten Blumenkohlpflanzen.
0 = ohne Narkosebehandlung.

Die Kurve, die die Zunahme der Blattfläche der nichtnarkotisierten und 84 Stunden lang narkotisierten Pflanzen darstellt, verläuft folgendermaßen: sie steigt bei den schwachnarkotisierten Pflanzen anfangs zwar sehr steil an, fällt bei den mit der nächststärkeren Dosis behandelten Pflanzen beinahe bis auf die Höhe der Kontrollpflanzen und sinkt schließlich bei den starknarkotisierten Pflanzen tief unter die Höhe der der Kontrollindividuen hinab.

Zusammenfassend können wir über die Chloroformnarkoseversuche folgendes sagen: 1. Die Wirkung der Chloroformnarkose auf die Empfänglichkeit der von uns verwendeten Blumenkohlsorte für *Alternaria brassicae* ließ sich in keinem Falle nachweisen. Der Fall bei der 48stündigen Chloroformierung, wo die mit stärkster Narkotikumkonzentration behandelten Pflanzen deutlich stärkeren Befall durch den Pilz gegenüber nichtnarkotisierten erlitten haben, ist eher auf die Einwirkung der Narkose auf die Virulenz des Pilzes als auf die Empfänglichkeit der Pflanze selbst zurückzuführen. 2. Eine Wirkung der Chloroformnarkose auf das Wachstum des Blumenkohls ist, auf Grund der Zunahme der Blattfläche zu schließen, eine deutlich beschleunigende (eine nur 10minutige Narkose hat keinen, 48 bzw. 84stündige Narkose neben einem beschleunigenden noch einen hemmenden Einfluß gezeigt); dabei liegt das Maximum der Beschleunigung bald bei den stärksten, bald bei den mittelstarken oder schwächsten Narkotikumskonzentrationen, je nach der Dauer der Narkose. Dort, wo bei 84stündiger Einwirkung das Wachstum der Blätter gehemmt wurde, handelt es sich um eine zu starke, die Pflanzen zugrunde richtende Dosis.

b) Versuche mit Äthernarkose.

Die geringe Wirkung, die die Chloroformnarkose auf den Befall von Blumenkohl durch *Alternaria* ausübte, oder daß überhaupt keine solche wahrnehmbare Wirkung zu beobachten war, ließ vermuten, daß auch Äther und Alkohol bei einer relativ kurzdauernden Narkosebehandlung keinen merkbaren Einfluß ausüben werden. Deshalb wurden mit diesen Narkotika nur einige langandauernde Versuche gemacht (von 12 und mehr Stunden an), die dann in der Tat bestätigten, daß Äther und Alkohol ebenso geringe, ja sogar noch geringere Wirksamkeit als Chloroform für die Empfänglichkeit bzw. Widerstandsfähigkeit des Blumenkohls gegen *Alternaria* besitzen.

Mit Äther sind 12, 48 und 108stündige Versuche ausgeführt worden, deren Ergebnisse in den Tabellen 11—13 zusammengefaßt sind. 12 und 48stündige Narkose wurde vor der Infektion vorgenommen, d. h. zuerst wurden die Wirtspflanzen allein narkotisiert und hierauf mit nichtnarkotisierten Sporen infiziert. Wie aus den Tabellen 11 und 12 ersichtlich, zeigen weder 12 noch 48 Stunden lang narkotisierte Pflanzen einen ins Gewicht fallenden Unterschied in der Empfänglichkeit für bzw. in der Widerstandsfähigkeit gegen den *Alternaria*befall, im Verhältnis zu den Kontrollpflanzen: in dem einen dieser Versuche sind mehr Infektionsstellen auf den narkotisierten, in dem anderen mehr auf den nichtnarkotisierten Pflanzen vorhanden, doch liegen diese Schwankungen im Bereiche des mittleren Fehlers. Die Beobachtungen über die Inkubationszeit ließen auch keine Differenz zwischen den ätherisierten Pflanzen und den Kontrollpflanzen erkennen. Ebenso ist die weitere Entwicklung der Infektionsstellen sowie die Sporenbildung bei sämtlichen Pflanzen ohne nennenswerte Unterschiede geblieben.

Pflanzen, die sofort nach der Infektion 108 Stunden mit Äther behandelt wurden, unterschieden sich im Vergleich zu den Kontrollindividuen in der Anzahl der Infektionsstellen ebenfalls nicht (wenn der mittlere Fehler berücksichtigt wird) (Tabelle 13). Doch war bei der weiteren Entwicklung der Infektionsstellen festzustellen, daß nach 2 Wochen auf den nichtnarkotisierten und den mit der stärksten Konzentration narkotisierten Pflanzen sich auffallend große Flecken gebildet haben im Vergleich zu denen mit schwacher bzw. mittelstarker Konzentration narkotisierten Pflanzen. (Abb. 8.)

Wie beim Chloroformversuch wurde auch hier der Durchmesser von je 10 der größten Infektionsstellen eines jeden Blattes gemessen und deren Mittelwerte errechnet. Wie aus Tabelle 13 hervorgeht, ist der Durchmesser der Infektionsstellen im Durchschnitt fast gleich groß auf den nichtnarkotisierten wie auf den mit der stärksten Konzentration narkotisierten Blättern, dagegen sind sie auf den Blättern, die mit schwacher bzw. mittlerer Konzentration behandelt wurden, beträchtlich kleiner; dabei liegt die

Tabelle 11.

Einfluß der 12stündigen Äthernarkose (vor der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
				1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	16,8 ± 2,25	23,8 ± 3,46	32,2 ± 6,40	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 525 ccm Äther Ohne Infektion	16,1 ± 2,72	31,2 ± 5,38	24,4 ± 1,90	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	12,4 ± 1,12	22,6 ± 3,03	20,9 ± 3,03	0,76 ± 0,09	0,82 ± 0,09	4,85 ± 0,37	3,33 ± 0,25	1,40 ± 0,20	1,67 ± 0,11
4. Narkose mit 70 ccm Äther Infiziert	17,3 ± 2,55	23,9 ± 5,11	23,5 ± 2,31	1,02 — 0,18	0,84 ± 0,12	3,79 ± 0,18	3,66 ± 0,22	1,46 ± 0,23	1,54 ± 0,18
5. Narkose mit 525 ccm Äther Infiziert	15,7 ± 3,90	19,4 ± 2,61	25,2 ± 5,02	0,81 ± 0,12	0,87 ± 0,11	3,70 ± 0,25	3,74 ± 0,24	1,45 ± 0,20	1,66 ± 0,23
6. Narkose mit 700 ccm Äther Infiziert	11,3 ± 1,47	19,8 ± 2,01	25,6 ± 4,20	1,42 ± 0,26	1,13 ± 0,19	3,74 ± 0,30	2,96 ± 0,14	2,19 ± 0,27	1,86 ± 0,12

Tabelle 12.

Einfluß der 48stündigen Äthernarkose (vor der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
				1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	39,9 ± 3,67	29,5 ± 2,48	33,3 ± 2,87	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 525 ccm Äther Ohne Infektion	40,7 ± 6,09	36,9 ± 4,89	32,6 ± 3,18	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	41,8 ± 6,46	27,1 ± 3,08	24,4 ± 2,35	6,67 ± 0,70	5,43 ± 0,41	2,23 ± 0,23	2,54 ± 0,19	1,38 ± 0,27	2,51 ± 0,23
4. Narkose mit 70 ccm Äther Infiziert	39,2 ± 4,49	26,5 ± 2,56	26,1 ± 2,05	4,63 ± 0,38	4,23 ± 0,36	1,89 ± 0,22	2,19 ± 0,24	1,09 ± 0,18	1,47 ± 0,20
5. Narkose mit 525 ccm Äther Infiziert	37,3 ± 2,77	33,2 ± 3,29	30,0 ± 2,95	5,28 ± 0,55	3,90 ± 0,41	1,48 ± 0,36	1,11 ± 0,16	1,39 ± 0,28	1,47 ± 0,35
6. Narkose mit 670 ccm Äther Infiziert	33,8 ± 3,68	26,6 ± 2,53	—[1])	4,90 ± 0,38	4,04 ± 0,20	3,31 ± 0,24	2,33 ± 0,32	—[1])	4,89 ± 0,37

[1]) Der Ventilator dieses Narkosekastens war während des Versuches eine Zeitlang außer Funktion, so daß die Pflanzen durch den nach unten gesunkenen Ätherdampf derart geschädigt wurden, daß die jüngsten Blätter abstarben.

Differenz außerhalb der Grenze des mittleren Fehlers. Ob diese Differenz auf irgend eine Wirkung des Äthers auf die Wirtspflanze oder auf den Parasiten zurückzuführen ist, läßt sich mit Sicherheit nicht sagen.

Auffallend ist vor allem bei sämtlichen Ätherisierungsversuchen die Unbeeinflußbarkeit des Blumenkohls durch die Äthernarkose: weder eine Beschleunigung noch eine Hemmung des Wachstums der Blätter, wie das



Abb. 8.
Die von *Alternaria brassicae* befallenen Blumenkohlblätter zwei Wochen nach der Infektion. In der oberen Reihe ist das jüngere, in der unteren Reihe das ältere Blatt je einer Pflanze dargestellt. Von links nach rechts: von einer der nichtnarkotisierten Kontrollpflanze, dann von einer mit 104 ccm, ferner von einer mit 208 ccm und schließlich von einer mit 312 ccm Äther narkotisierten Pflanze.
(Aufnahme Photogr. Institut der Eidg. Techn. Hochschule.)

jeweils bei der Chloroformnarkose festgestellt wurde, ist in irgendeinem Falle der Äthernarkose beobachtet worden; trotzdem die stärksten der dabei verwendeten Konzentrationen in der Nähe der Grenzkonzentrationen stehen, d. h. nahe den Konzentrationen, oberhalb deren die Pflanzen im Behandlungsfalle irreversibel geschädigt würden. Dies ist um so merkwürdiger, als der Äther in der Gärtnerei als ein Beschleunigungsmittel für das Austreiben der Knospen gebraucht wird (Johannsen, 1906).

c) Versuche mit Alkoholnarkose.

Die Wirksamkeit des Alkohols auf die Empfänglichkeit bzw. Widerstandsfähigkeit des Blumenkohls gegen *Alternaria brassicae* erwies sich ebenso schwach wie die des Chloroforms und Äthers.

Tabelle 13.

Einfluß der 108stündigen Äthernarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen je qcm		Durchmesser der Infektionsstellen in mm	
		1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	53,1±4,23	—	—	—	—
2. Narkose mit 208 ccm Äther Ohne Infektion	60,9±4,83	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	52,6±4,32	5,01±0,44	5,96±0,35	0,78±0,03	2,01±0,15
4. Narkose mit 104 ccm Äther Infiziert	50,9±4,66	3,33±0,53	5,36±0,76	0,60±0,03	1,15±0,09
5. Narkose mit 208 ccm Äther Infiziert	51,6±3,92	3,38±0,59	4,96±0,73	0,64±0,03	1,19±0,09
6. Narkose mit 312 ccm Äther Infiziert	45,7±1,96	4,32±0,68	4,50±0,70	1,00±0,08	1,89±0,16

Aus den Tabellen 14 und 15 sieht man, daß eine 12stündige Narkose, sowohl vor wie nach der Infektion vorgenommen, keine nennenswerte Steigerung bzw. Verminderung des Befalles durch den Parasiten ausübt. Die mit der schwächsten bzw. mittelstarken Dosis narkotisierten Pflanzen zeigen überhaupt keinen Unterschied gegenüber den Kontrollpflanzen. Auf den stark narkotisierten Pflanzen ist zwar die Bildung der Infektionsstellen in den meisten Fällen üppiger als auf nichtnarkotisierten (Tabelle 14 und Tabelle 15, erster und teilweise dritter Versuch), aber der Unterschied liegt wiederum im Bereiche des mittleren Fehlers.

Bei 84stündiger Narkose ist es gleichfalls nicht gelungen deutliche Veränderungen in der Erkrankung festzustellen. Die stärkste Alkoholkonzentration (22 ccm) erwies sich als tödlich; die Pflanzen gingen inner-

Tabelle 14.

Einfluß der 12stündigen Alkoholnarkose (vor der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %		Zahl der Infektionsstellen je qcm			
			1. Versuch		2. Versuch	
	1. Versuch	2. Versuch	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	29,1±2,53	21,8±2,48	—	—	—	—
2. Narkose mit 18 ccm Alkohol Ohne Infektion	20,4±1,67	20,4±1,94	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	28,7±3,00	16,8±2,28	1,18±0,22	1,84±0,26	2,68±0,25	3,51±0,32
4. Narkose mit 9 ccm Alkohol Infiziert	26,2±4,02	17,3±2,39	1,27±0,28	1,94±0,27	2,37±0,25	3,31±0,47
5. Narkose mit 18 ccm Alkohol Infiziert	25,4±3,22	14,7±1,50	1,02±0,15	1,73±0,21	3,02±0,45	4,18±0,35
6. Narkose mit 27 ccm Alkohol Infiziert	27,5±2,58	19,4±3,58	2,22±0,22	2,42±0,39	4,16±0,22	3,93±0,33

Tabelle 15.

Einfluß der 12stündigen Alkoholnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %			Zahl der Infektionsstellen je qcm					
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
				1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	21,3 ± 4,67	28,7 ± 4,81	26,1 ± 4,10	—	—	—	—	—	—
2. Narkose mit 18 ccm Alkohol Ohne Infektion	21,4 ± 2,24	23,4 ± 2,63	24,3 ± 5,47	—	—	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	20,4 ± 3,35	21,7 ± 2,35	19,2 ± 2,87	0,25 ± 0,05	0,31 ± 0,06	1,65 ± 0,26	1,43 ± 0,24	1,91 ± 0,22	1,27 ± 0,17
4. Narkose mit 9 ccm Alkohol Infiziert	20,9 ± 2,51	18,0 ± 2,01	18,5 ± 1,47	0,22 ± 0,05	0,34 ± 0,09	1,62 ± 0,19	1,08 ± 0,18	1,41 ± 0,19	1,14 ± 0,16
5. Narkose mit 18 ccm Alkohol Infiziert	18,4 ± 1,90	21,3 ± 3,25	17,5 ± 2,72	0,30 ± 0,05	0,36 ± 0,08	1,55 ± 0,17	0,92 ± 0,09	1,61 ± 0,26	1,03 ± 0,13
6. Narkose mit 27 ccm Alkohol Infiziert	22,6 ± 1,91	25,8 ± 4,12	21,0 ± 1,37	0,43 ± 0,06	0,37 ± 0,06	1,58 ± 0,22	0,90 ± 0,15	2,19 ± 0,25	0,99 ± 0,18

halb 4 Tagen ein. Auf den mit der nächstschwächeren bzw. mit der schwächsten Konzentrationen behandelten Versuchsexemplaren war die Bildung der Infektionsstellen zahlenmäßig eine etwas geringere als auf den Kontrollpflanzen (Tabelle 16), der Unterschied liegt aber in den Grenzen des mittleren Fehlers. Nach zwei Wochen wurden die Infektionsstellen nach derselben Methode wie bei den Chloroform- und Äthernarkoseversuchen gemessen. Wie aus Tabelle 16 hervorgeht, war auf den jüngeren Blättern kein Unterschied in der Größe der Infektionsstellen vorhanden, hingegen waren auf den älteren Blättern, der mit mittelstarker Konzentration narkotisierten Pflanzen deutlich größere Flecken gebildet worden als auf den Blättern von nichtnarkotisierten bzw. schwachnarkotisierten Pflanzen.

Trotzdem Alkohol im Vergleich zu Chloroform und Äther in viel kleineren Mengen auf die Pflanzen tödlich wirkt, so muß man seine Wirkung in den nicht tödlich wirkenden Konzentrationen als gering bezeichnen, weil das Wachstum der Blätter bei 12stündiger Behandlung selbst mit der stärksten Alkoholdosis, die die Blumenkohlpflanzen noch ertragen können, keine Veränderungen zeigte gegenüber den Kontrollpflanzen. Erst bei 84 Stunden lang andauernder Narkose ließ sich die beschleunigende Wirkung der mittelstarken und der schwächster Alkoholkonzentrationen auf die Zunahme der Blattfläche in kleinem Maße wahrnehmen.

Überblickt man sämtliche Narkoseversuche mit Blumenkohl als Wirtspflanze und *Alternaria brassicae* als Parasiten, so sieht man, daß die Beziehungen zwischen der Wirtspflanze und dem Parasiten durch eine Narkosebehandlung sich nur äußerst schwach beeinflussen lassen. Im ganzen ist es nur bei 48stündiger Chloroformnarkose in stärkster Konzentration

Tabelle 16.

Einfluß der 84stündigen Alkoholnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Brassica oleracea* durch *Alternaria brassicae*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen je qcm		Durchmesser der Infektionsstellen in mm	
		1. Blatt	2. Blatt	1. Blatt	2. Blatt
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	16,1 ± 1,32	—	—	—	—
2. Narkose mit 15 ccm Alkohol Ohne Infektion	23,2 ± 0,94	—	—	—	—
3. Ohne Narkose Infiziert	15,4 ± 0,97	3,37 ± 0,55	3,42 ± 0,43	0,73 ± 0,04	0,94 ± 0,07
4. Narkose mit 7 ccm Alkohol Infiziert	21,1 ± 1,22	2,41 ± 0,40	2,30 ± 0,26	0,83 ± 0,12	0,98 ± 0,08
5. Narkose mit 15 ccm Alkohol Infiziert	20,7 ± 3,12	2,18 ± 0,22	2,62 ± 0,27	0,64 ± 0,03	2,05 ± 0,13
6. Narkose mit 22 ccm Alkohol Infiziert	Die mit dieser Konzentration narkotisierten Pflanzen wurden innerhalb zirka 4 Tagen zum Absterben gebracht				

gelungen, eine deutliche Steigerung der Erkrankung zu bekommen. Den Erkrankungsgrad der Pflanze beurteilen wir, wie das schon im methodischen Teil dieser Arbeit gesagt wurde, hauptsächlich nach der Anzahl je Quadratzentimeter des Blattes entstandenen Infektionsstellen. In allen anderen Fällen sind entweder keine oder nur geringe, im Bereiche des mittleren Fehlers sich bewegende Unterschiede vorhanden.

Ob diese unter dem Einflusse der Narkose beobachtete Erkrankungssteigerung des Blumenkohls tatsächlich auf die Steigerung der Empfänglichkeit der Wirtspflanze für den Befall durch *Alternaria* zurückzuführen ist, oder ob sie auf der durch die Narkose verstärkten („stimulierte") Virulenz des Pilzes beruht, oder ob die beiden Faktoren (Empfänglichkeits- und Virulenzsteigerung) zusammen wirken, kann man nicht mit Sicherheit entscheiden. An Hand der oben beschriebenen Versuche darf man jedoch annehmen, daß die Narkose als solche die Empfänglichkeit des Blumenkohls für den Befall durch *Alternaria brassicae* recht gering beeinflußt, weil sich nirgends in unseren Versuchen ein Zusammenhang der Wirkung des Narkotikums auf das Wachstum der Blätter von Blumenkohl und der darauf entstandenen *Alternaria*infektionsstellen feststellen ließ; selbst dort, wo die Zunahme der Blattfläche der narkotisierten und der nichtnarkotisierten Pflanzen eine frappante Differenz ergeben hat, waren in dem Erkrankungsgrad keine merklichen Unterschiede vorhanden, wie z. B. bei 84stündiger Chloroformnarkose (Tabelle 10). Ferner wurde eine deutliche Differenz im Erkrankungsgrad zwischen den narkotisierten und den nichtnarkotisierten Pflanzen nur dort beobachtet, wo gleichzeitig die Wirtspflanzen und der Parasit der Wirkung des Narkotikums unterworfen wurden.

Kehren wir nun zum Schluß zu den in der Einführung besprochenen früheren Versuchen von Salmon (1905), Reed und Cooley (1912), Stakman (1915), Bolle (1924) zurück, wo unter dem Einfluß der Narkotika eine höhere Empfänglichkeit der Pflanzen konstatiert wurde, so sehen wir in unseren Versuchen zwar keinen Widerspruch, aber auch keine feste Bestätigung jener Beobachtungen.

Den verhältnismäßig geringen Einfluß der Narkose auf die Erkrankung der Pflanzen in unseren Versuchen sind wir geneigt auf gewisse Eigenschaften des verwendeten Parasiten zurückzuführen. *Alternaria brassicae* ist bekanntlich kein obligater Parasit, er gedeiht sehr gut auf künstlichen Nährsubstraten, wie Malz-, Kartoffelagar, Haferflocken, Hafergelatine usw., auch auf den durch die Narkotika abgetöteten, vorher infizierten Blumenkohlblättern konnte ein üppiges Wachstum dieses Pilzes und eine reiche Sporenbildung beobachtet werden. Schwächeparasit ist er aber auch nicht, wie z. B. *Heterosporium variabile* in den Versuchen von Reed und Cooley (1912); unter optimalen Außenbedingungen befällt er ganz gesunde, frische, in voller Lebenstätigkeit sich befindende Pflanzen.

Zudem ist er wenig spezialisiert; die Infektion konnte nicht nur auf verschiedenen Sorten von *Brassica*, sondern auch auf *Raphanus sativus*, sogar auf den noch weiter in der Cruciferenfamilie stehenden Gattungen *Alliaria* und *Cheiranthus* als gut gelungen festgestellt werden. Es ist daher begreiflich, daß für einen so wenig anspruchsvollen Pilz es tatsächlich nicht viel ausmacht, ob die Wirtspflanze durch die Narkose oder durch irgend andere Agenzien geschwächt oder in ihrer Entwicklung beschleunigt wird.

Die beschleunigte Entwicklung dieses Pilzes, die in den Bolleschen (1924) Versuchen auf *Brassica oleracea*-Sorten unter Einwirkung des Alkohols beobachtet wurde, beruht wahrscheinlich nicht auf der Veränderung der Empfänglichkeit der Wirtspflanze durch die Narkose, sondern vielmehr auf dem Einfluß des Narkotikums (Alkohols) auf die Virulenz des Pilzes.

V. Versuche mit *Uromyces appendiculatus* auf *Phaseolus vulgaris*.

Vor den eigentlichen Narkoseversuchen mit *Uromyces appendiculatus* auf *Phaseolus vulgaris* sind einige orientierende Vorversuche gemacht worden, deren Zweck es war, eine für das bessere Gelingen der Versuche geeignete Bohnensorte ausfindig zu machen. Es schien hierzu eine solche Sorte in Frage zu kommen, die sich gegen den Befall von *Uromyces* widerstandsfähig erwies, um nachprüfen zu können, ob durch die Narkose auch hier die Empfänglichkeit für den Befall vergrößert wird, wie es bei den Versuchen von Stakman (1915) mit Getreidesorten und *Puccinia graminis* der Fall ist.

Von den in der Literatur angegebenen resistenten Bohnensorten haben wir die Sorten „Mont d'Or“ (Fischer und Gäumann, 1929), „Klosterfrauen“ (Jordi, 1916) und außerdem einige Spielarten von *Phaseolus multiflorus*, die nach der Angabe von Lakon (1916) sehr widerstandsfähig sind und im Freien nur selten von *Uromyces* befallen werden, nachgeprüft. Diese letzte Bohnenart erwies sich auch in unseren Versuchen als sehr widerstandsfähig, trotzdem kam sie für unsere Versuche nicht in Frage, weil aus den Ergebnissen der Vorversuche mit großer Wahrscheinlichkeit zu schließen war, daß die Narkose die Empfänglichkeit der Bohnen für den Befall durch *Uromyces* eher vermindern als vergrößern würde, und es daher wenig Sinn hätte, eine besonders widerstandsfähige Sorte zu wählen. Zudem traten die Infektionsstellen auf den Blättern dieser Art sehr unregelmäßig auf, so daß beim Berechnen des mittleren Wertes der Infektionsstellen von je zehn Pflanzen ein recht beträchtlicher mittlerer Fehler entstand.

Nach einer durchgeführten Nachprüfung der Sorten „Mont d'Or“ und „Klosterfrauen“, wurde für die eigentlichen Versuche die letztere gewählt, die im Vergleich mit empfänglichen Sorten wie z. B. „Graf Zeppelin“, „Juli“, „Phenomen“, als eine ziemlich widerstandsfähige zu bezeichnen ist, die aber bei den für die Infektion günstigen Außenbedingungen, wie sie

bei unserem Versuchsverfahren ja tatsächlich vorhanden waren, doch ziemlich stark von *Uromyces* befallen wurde.

Bei den Narkoseversuchen mit Bohnen und *Uromyces appendiculatus*, die von Ende September bis Ende November 1931 dauerten, wurden ebenfalls, wie bei den Versuchen mit Blumenkohl und *Alternaria*, die Pflanzen nach der Narkose und der Infektion in die Inkubationskammer gebracht, wo die Temperatur ständig auf 18—20° C. gehalten wurde, und die Luft im allgemeinen in den ersten zwei Tagen nach der Infektion mit Wasserdampf gesättigt war. Unter solchen Bedingungen brachen die Infektionsstellen gewöhnlich schon am 5. Tage als weißliche Punkte hervor, die 2 Tage später, d. h. am 7. Tag nach der Infektion, gezählt wurden, weil sie dann für ein Auszählen am deutlichsten waren. Zur gleichen Zeit wurden auch die Blätter zum zweiten Male gemessen.

Kurz darauf begannen die weißlichen nekrotischen Infektionsstellen sich in Uredosporenhäufchen umzuwandeln; dabei erfolgte diese Umwandlung fast ausnahmslos auf allen dem bloßen Auge schon sichtbaren Flecken. Nach einigen Tagen erfolgte eine üppige Teleutosporenbildung.

Die Versuche mit *Uromyces appendiculatus* auf *Phaseolus vulgaris* teilen wir, ähnlich wie die Blumenkohlversuche, in drei Gruppen ein: a) Versuche mit Chloroform-, b) mit Äther- und c) mit Alkoholnarkose.

a) Versuche mit Chloroformnarkose.

Ähnlich wie bei der Besprechung der Narkoseversuche mit Blumenkohl und *Alternaria* wird auch hier zunächst die Wirkung der Narkose auf den Befall der Wirtspflanze durch den Parasit und dann ihre Wirkung auf die Wirtspflanze selbst besprochen.

Tabelle 17.

Einfluß der 15 minutigen Chloroformnarkose auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	a) Narkose vor der Infektion		b) Narkose nach der Infektion	
	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	606 ± 38,5	—	412 ± 37,1	—
2. Narkose mit 48 ccm Chlorof. Ohne Infektion	550 ± 35,6	—	457 ± 46,8	—
3. Ohne Narkose Infiziert	470 ± 19,4	3,18 ± 0,55	451 ± 35,5	1,66 ± 0,28
4. Narkose mit 24 ccm Chlorof. Infiziert	428 ± 28,9	3,54 ± 0,56	422 ± 28,8	1,62 ± 0,26
5. Narkose mit 48 ccm Chlorof. Infiziert	438 ± 38,9	3,84 ± 0,34	400 ± 30,5	1,58 ± 0,23
6. Narkose mit 72 ccm Chlorof. Infiziert	391 ± 34,4	4,15 ± 0,83	404 ± 29,2	1,61 ± 0,14

Tabelle 18.

Einfluß der 2stündigen Chloroformnarkose auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	a) Narkose vor der Infektion		b) Narkose nach der Infektion	
	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	301 ± 26,9	—	417 ± 67,8	—
2. Narkose mit 42 ccm Chlorof. Ohne Infektion	316 ± 41,4	—	510 ± 72,7	—
3. Ohne Narkose Infiziert	297 ± 36,5	15,91 ± 0,84	336 ± 26,2	4,50 ± 1,08
4. Narkose mit 21 ccm Chlorof. Infiziert	257 ± 15,5	16,41 ± 1,05	313 ± 48,4	4,41 ± 0,99
5. Narkose mit 42 ccm Chlorof. Infiziert	272 ± 15,0	15,34 ± 0,66	292 ± 30,1	4,01 ± 1,01
6. Narkose mit 63 ccm Chlorof. Infiziert	212 ± 17,7	15,62 ± 0,86	364 ± 46,7	4,80 ± 0,79

Die Versuche wurden wiederum erst mit kurzdauernden Narkosen begonnen. Man sieht in Tabelle 17 (15minutige Narkose), daß bei der vor der Narkose vorgenommenen Infektion auf den mit der stärksten Chloroformkonzentration behandelten Pflanzen am meisten Befallsstellen aufgetreten sind; mit der Abnahme der Narkotikumdosis nimmt regelmäßig auch die Anzahl der Infektionsstellen ab, auf den Kontrollexemplaren sinkt sie schließlich auf ein Minimum herab. Trotzdem sind diese Differenzen bei weitem nicht sicher, weil sie kleiner sind als der Wert ihrer mittleren Fehler (m_D)[1]. Eine Narkose nach der Infektion ergab überhaupt keine regelmäßigen Differenzen.

Zweistündige Chloroformnarkose, vor der Infektion sowie nach der Infektion, ließ ebenfalls in bezug auf den Befall der Wirtspflanze durch den Parasit keinen nennenswerten Einfluß feststellen, wie das aus Tabelle 18 ersichtlich ist.

Erst bei der 12stündigen Narkose trat die Wirkung des Chloroforms deutlich hervor. Sicherheitshalber sind diese Versuche dreimal ausgeführt worden. Die Wirkung der 12stündigen Narkose vor der Infektion auf den Befall des Pilzes ist aus Tabelle 19 ersichtlich. Die Anzahl der Infektionsstellen auf den mit allen drei Konzentrationsabstufungen des Chloroforms jeweils narkotisierten Bohnen ist in allen drei Versuchen übereinstimmend kleiner als auf den nichtnarkotisierten Kontrollpflanzen. In

---

[1]) Im allgemeinen nimmt man die Unterschiede zwischen den Ergebnissen zweier Versuchsreihen dann als sicher an, wenn ihre Differenz (D) dreimal größer ist als der mittlere Fehler dieser Differenz (m_D).

Im Folgenden soll unter dem $\frac{D}{m_D}$-Werte die Beziehung der Differenz (D) zu dem mittleren Fehler dieser Differenz (m_D) verstanden werden.

den Versuchen 1 und 3 ist der größte Unterschied des Pilzbefalls zwischen den starknarkotisierten und den Kontrollpflanzen, in Versuch 2 zwischen den mittelstark- bzw. schwachnarkotisierten Pflanzen und den Kontrollexemplaren. Werden die $\frac{D}{m_D}$-Werte errechnet, so sieht man, daß sie bei den starknarkotisierten, sowie bei den Kontrollpflanzen zwischen 2,7 und 1,2 liegen, diejenigen der mittelstarknarkotisierten sowie der Kontrollpflanzen zwischen 2,3 und 0,2 und die der schwachnarkotisierten sowie der Kontrollpflanzen zwischen 1,4 und 0,7.

Tabelle 19.

Einfluß der 12stündigen Chloroformnarkose (vor der Infektion) auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
Ohne Narkose Ohne Infektion	504±65,9	—	529±54,6	—	448±4,11	—
Narkose mit 38 ccm Chlorof. Ohne Infektion	418±54,9	—	434±46,3	—	390±37,7	—
Ohne Narkose Infiziert	488±39,8	7,46±2,37	496±59,6	4,40±0,80	375±37,3	16,82±1,93
Narkose mit 19 ccm Chlorof. Infiziert	446±61,8	4,54±1,10	490±69,2	5,14±0,78	337±24,5	13,07±1,94
Narkose mit 38 ccm Chlorof. Infiziert	424±44,2	2,18±0,80	401±54,2	4,60±0,75	324±60,3	13,26±2,03
Narkose mit 58 ccm Chlorof. Infiziert	397±42,0	1,95±1,18	343±33,2	3,19±0,68	300±39,1	10,09±1,51

Tabelle 20.

Einfluß der 12stündigen Chloroformnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	1. Versuch		2. Versuch		3. Versuch	
	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
Ohne Narkose Ohne Infektion	161±21,9	—	155±12,7	—	643±59,5	—
Narkose mit 38 ccm Chlorof. Ohne Infektion	171±16,3	—	160±25,3	—	700±62,2	—
Ohne Narkose Infiziert	185±21,2	1,68±0,40	506±76,5	2,27±0,79	629±36,7	5,01±1,17
Narkose mit 19 ccm Chlorof. Infiziert	138±14,6	0,95±0,15	377±44,3	1,31±0,30	635±42,7	5,69±0,78
Narkose mit 38 ccm Chlorof. Infiziert	148±13,2	1,29±0,39	376±34,5	1,07±0,22	704±47,6	4,01±1,03
Narkose mit 58 ccm Chlorof. Infiziert	120±16,8	0,89±0,36	306±34,0	0,39±0,16	533±35,2	2,84±0,80

Die Unterschiede im Befall der Pflanze durch den Pilz liegen demnach noch in keinem Falle außerhalb des Bereiches des mittleren Fehlers; da aber die Ergebnisse von allen drei Versuchen im großen ganzen übereinstimmen, so kann man als sicher annehmen, daß wenigstens durch die stärkste Narkose die Empfänglichkeit der Bohnenpflanzen für *Uromyces appendiculatus* gegenüber den nicht narkotisierten vermindert wurde.

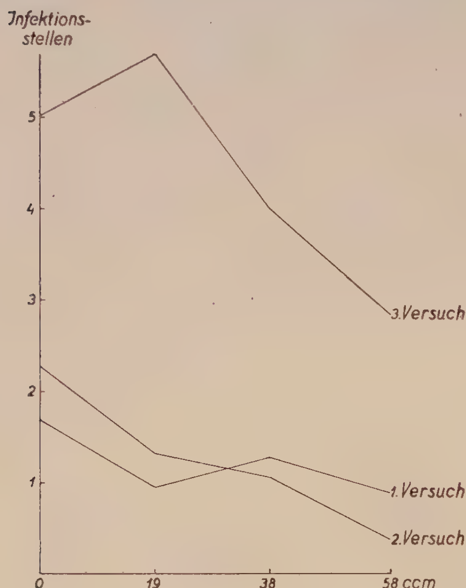


Abb. 9.
Anzahl der Infektionsstellen je qcm des Blattes auf nichtnarkotisierten und 12 Stunden lang mit drei verschiedenen Chloroformkonzentrationen nach der Infektion narkotisierten Bohnenpflanzen. 0 = ohne Narkosebehandlung.

Die Ergebnisse der 12stündigen Chloroformnarkose nach der Infektion stimmen im großen ganzen mit denselben der 12stündigen Narkose vor der Infektion überein, was eine Unbeeinflußbarkeit der Virulenz des Pilzes durch den Chloroformdampf vermuten läßt. So sieht man in Tabelle 20 und Abb. 9, daß auch hier die größte Differenz der Anzahl der Infektionsstellen im Durchschnitt bei den starknarkotisierten und den nichtnarkotisierten Pflanzen liegt, dabei sind die narkotisierten stärker durch den Pilz befallen worden als die unbehandelten. Die Anzahl der Infektionsstellen auf den mittelstark- und schwachnarkotisierten Pflanzen nimmt im Vergleich mit den starknarkotisierten Pflanzen in der Regel mit der Abnahme der Narkoticumkonzentration zu und erreicht das Maximum bei den Kontrollindividuen. Die $\frac{D}{m_D}$-Werte sind folgende: der $\frac{D}{m_D}$-Wert der starknarkotisierten und der nichtnarkotisierten Pflanzen liegt zwischen 2,3—1,5; derjenige der mittelstark- bzw. schwachnarkotisierten und der nichtnarkotisierten zwischen 1,7—0,5.

Die folgenden Versuche wurden mit 48stündiger Chloroformnarkose ausgeführt. In einem Falle wurden Chloroformdosen von 49, 32 und 16 ccm auf 1 cbm Luft verwendet, und dabei ergab sich, daß die stärkste von diesen Dosen tödlich wirkte: alle 10 mit dieser Menge behandelten Pflanzen gingen ein. Da dieser Versuch teilweise mißlungen war, wurde ein weiterer mit den schwächeren Chloroformkonzentrationen vorgenommen. Die Ergebnisse der beiden sind in den Tabellen 21 und 22 dargestellt.

Man sieht, daß übereinstimmend mit den 12stündigen Chloroformnarkoseversuchen, ja sogar noch deutlicher, der Befall des Pilzes auf den mit den stärksten Konzentrationen (32, 18 und 16 ccm) behandelten Pflanzen viel geringer ist als auf den Kontrollpflanzen. Die Differenzen kann man als sicher annehmen, weil die $\frac{D}{m_D}$-Werte 3,9—2,1 (im Durchschnitt 2,9 ccm) betragen. Die kleinsten Mengen (12 und 6 ccm) zeigen wiederum keine sichere Wirksamkeit. Die Anzahl der Infektionsstellen auf den mit diesen Dosen behandelten Pflanzen ist zwar kleiner als die auf den Kontrollpflanzen, aber der mittlere Fehler ist so groß, daß der Unterschied ganz unsicher wird.

Außerdem ergab sich bei der Verfolgung des Erscheinens der Infektionsstellen, daß diese auf den starknarkotisierten Pflanzen in dem ersten der beiden 48stündigen Narkoseversuche (mit 16 und 32 ccm) um

Tabelle 21.
Einfluß der 48stündigen Chloroformnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	621 ± 55,4	—
2. Narkose mit 32 ccm Chloroform Ohne Infektion	321 ± 43,9	—
3. Ohne Narkose Infiziert	662 ± 54,6	1,15 ± 0,13
4. Narkose mit 16 ccm Chloroform Infiziert	520 ± 34,3	0,48 ± 0,11
5. Narkose mit 32 ccm Chloroform Infiziert	287 ± 37,4	0,61 ± 0,16
6. Narkose mit 49 ccm Chloroform Infiziert	Bei dieser Chloroformkonzentration gingen alle zehn Pflanzen ein	

Tabelle 22.
Einfluß der 48stündigen Chloroformnarkose (nach der Infektion) auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	346 ± 38,6	—
2. Narkose mit 12 ccm Chloroform Ohne Infektion	296 ± 30,8	—
3. Ohne Narkose Infiziert	316 ± 24,7	2,10 ± 0,50
4. Narkose mit 6 ccm Chloroform Infiziert	274 ± 16,6	1,40 ± 0,27
5. Narkose mit 12 ccm Chloroform Infiziert	281 ± 16,4	1,69 ± 0,25
6. Narkose mit 18 ccm Chloroform Infiziert	196 ± 20,4	1,00 ± 0,16

1—2 Tage später erschienen als auf den mit der schwächsten Dosis behandelten Pflanzen. In allen früheren und den noch später zu besprechenden Versuchen wurde kein derartiger Einfluß der Narkose auf die Inkubationszeit festgestellt.

Wir gehen nun über zu der Wirkung der Chloroformnarkose auf das Wachstum der Bohnenpflanzen und beginnen mit der kurzdauernden Narkose.

Zunächst sieht man in den Tabellen 17 und 18, daß die 15 minutige sowie die 2 stündige Chloroformnarkose noch keine regelmäßige Wirkung auf das Wachstum der Blätter auszuüben vermag und daß die Differenzen der Flächenzunahme derselben zwischen den narkotisierten und den nichtnarkotisierten Pflanzen sich noch ziemlich weit im Bereiche des mittleren Fehlers bewegen.

Eine deutliche Wirkung der Chloroformnarkose auf das Wachstum der Blätter läßt sich erst von einer 12 stündigen Einwirkungsdauer an erkennen.

Betrachtet man in den Tabellen 19 und 20 die Zunahme der Blattfläche unter dem Einfluß der 12 stündigen Chloroformnarkose, so sieht man, daß diese in allen sechs Versuchen durch die stärkste Dosis im Vergleich mit derjenigen der nichtnarkotisierten Kontrollpflanzen gehemmt ist; dabei schwanken die $\frac{D}{m_D}$-Werte zwischen 2,4—1,4 (im Durchschnitt 1,5). Die Zunahme der Blattfläche, der mit der mittelstarken und der schwächsten Chloroformkonzentration behandelten Pflanzen ist zwar auch in der Mehrzahl der Fälle kleiner als bei den Kontrollpflanzen; doch sind diese Unterschiede unsicher, weil sie im Vergleich mit dem mittleren Fehler zu klein sind $\left(\frac{D}{m_D}\right.$ beträgt im Durchschnitt zirka $\left.1\right)$.

Hierbei muß noch erwähnt werden, daß neben der Wirkung der Narkose auf das Wachstum der Blätter auch diejenige auf die Verlängerung des Stengels der Bohnenpflanzen berücksichtigt wurde, obwohl das zahlenmäßig nirgends besonders ausgedrückt ist. Es wurde überall, sowohl in den obenbeschriebenen Chloroformnarkoseversuchen als auch in allen anderen weiter zu besprechenden Untersuchungen ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Wachstum der Blätter und dem des Stengels der Bohnenpflanzen beobachtet: wo die Vergrößerung der Blätter durch die Narkose gehemmt wurde, ließ sich auch ein Zurückbleiben des Stengelwachstums deutlich wahrnehmen.

Um sich einigermaßen zu orientieren, ob die das Wachstum der Pflanzen hemmende Wirkung der 12 stündigen Chloroformnarkose eine vorübergehende, narkotische ist, oder ob sie auf einer giftigen Nachwirkung des Narkotikums beruht, wurden die Pflanzen von einem der

obenbeschriebenen 12stündigen Versuche für längere Zeit ins Treibhaus gestellt; hier wurde ihre weitere Entwicklung beobachtet. Im Verlaufe von zirka drei Monaten ließ sich weder auf die Bildung noch auf das Wachstum der neuen Blätter und des Stengels, noch auf die Ausbildung der Blüten und der Früchte irgendwelche schädliche Nachwirkung der Narkose im Vergleich zu den Kontrollpflanzen mehr feststellen.

Die Wirksamkeit der 48stündigen Chloroformnarkose auf das Wachstum der Blätter (auch des Stengels), war noch stärker als die der 12stündigen (Tabellen 21 und 22). Die Zunahme der Blattflächen, der mit den zwei stärksten Dosen (32 und 18 ccm) jeweils narkotisierten Pflanzen, ist im Vergleich zu den nicht behandelten bedeutend gehemmt und zwar ist sie bei den der stärksten Konzentration ausgesetzten Pflanzen mehr als zweimal, bei den der schwächeren mehr als anderthalbmal kleiner als bei den Kontrollpflanzen; dabei liegen die Differenzen außerhalb der Grenzen des mittleren Fehlers. Die Wirkung der nächstschwächeren Konzentrationen (16, 12 und 6 ccm) auf das Wachstum der Blätter ist auch als eine hemmende zu betrachten, nur liegen die Unterschiede in der Zunahme der Blattfläche der mit diesen Konzentrationen behandelten und unbehandelten Pflanzen hier noch im Bereiche des mittleren Fehlers (die $\frac{D}{m_D}$-Werte sind zwischen 2,2 bis 1,2).

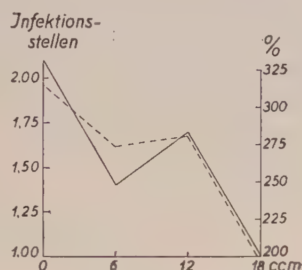


Abb. 10.
Beziehung zwischen der Anzahl der Infektionsstellen (ausgezogene Kurve) und der Zunahme der Blattfläche (punktierte Kurve) der 48 Stunden mit drei verschiedenen Chloroformkonzentrationen narkotisierten und der nichtnarkotisierten Bohnenpflanzen. 0 = ohne Narkosebehandlung.

Aus den oben angeführten Ergebnissen sämtlicher Chloroformnarkoseversuche erkennt man, daß die Empfänglichkeit der Wirtspflanze *Phaseolus vulgaris* für den Parasiten *Uromyces appendiculatus* unter dem Einflusse der Chloroformnarkose (sofern sie lange genug, mindestens 12 Stunden, dauert) regelmäßig abnimmt, wobei diese Abnahme Hand in Hand geht mit der hemmenden Wirkung der Narkose auf die Wirtspflanze (vgl. Abb. 10).

Zur Ergänzung des Bildes über die Wirkung der Narkose auf die Beziehungen zwischen den Bohnenpflanzen und dem Parasiten wurden später noch spezielle Versuche vorgenommen. Ihr Zweck war: erstens die Wirkung der Chloroformnarkose auf den Pilz selbst zu prüfen, zweitens die Dauer der narkotischen bzw. der giftigen Nachwirkung des Narkotikums festzustellen.

Zur Prüfung der Narkosewirkung auf den Pilz wurde folgendes Verfahren angewandt. Es wurden stark von *Uromyces* (im Uredostadium) befallene Blätter von *Phaseolus vulgaris* „Graf Zeppelin“ im Wasser

geschüttelt, die suspendierten Sporen mittels Zentrifugierung sedimentiert und etwa 12 Stunden bei Zimmertemperatur in einem Glasschälchen getrocknet. Auf diese Weise wurden Sporen von etwa 60 Bohnenpflanzen gesammelt, so daß uns zirka 3 ccm Sporenmaterial zur Verfügung standen.

Die Sporen wurden zu annähernd gleichen Teilen in kleine, flache Glasdosen getan; je eine solche Dose wurde in den Narkosekasten gestellt und 12 Stunden bei zirka 19° C, zirka 90% relative Feuchtigkeit und bei Lampenbelichtung mit Chloroformdämpfen narkotisiert (zur Kontrolle blieben in einem Kasten die Sporen ohne Narkose). Die Außenbedingungen bei der Narkose der Sporen waren hiermit die gleichen wie sie bei der Narkotisierung der Pflanzen meistens inne gehalten wurden.

Sofort nach der Aufhebung der Narkose wurde von jeder Dose mittels eines kleinen, zirka 0,25 ccm fassenden Meßzylinderchens je eine gleiche Portion Sporen abgemessen und in je 400 ccm Leitungswasser suspendiert. Mit den so vorbereiteten Suspensionen wurden je zehn Bohnenpflanzen bestäubt und hierauf in die Inkubationskammer gebracht.

Die Wirkung der Narkose auf die Sporen wurde nach der Anzahl der entstandenen Infektionsstellen je qcm des Bohnenblattes beurteilt. Sämtliche diesbezüglichen Ergebnisse sind in Tabelle 23 angegeben. Man kann hieraus ersehen, daß keine der von uns verwendeten Chloroformkonzentrationen eine hemmende Wirkung auf die Sporen ausgeübt hatte. Selbst bei der doppelt so starken Dosis, wie sie bei der Bohnennarkose verwendet wurde (nämlich 116 ccm Chloroform auf 1 cbm Luft) ist die Anzahl der Infektionsstellen ebenso groß, ja sogar noch größer als bei der schwachen Narkose und bei der Kontrolle (wobei jedoch die vorhandenen Differenzen im Bereiche des mittleren Fehlers liegen[1]).

Diese Ergebnisse der Sporennarkose erhellen einigermaßen die Tatsache, warum in den früher besprochenen Parallelversuchen der Befall der Bohnen durch *Uromyces* fast gleichartig verlief, unabhängig davon, ob die Pflanzen mit den nichtnarkotisierten Sporen infiziert wurden (Narkose vor der Infektion) oder ob die Narkose sich sowohl auf die Pflanzen als auch auf die Sporen erstreckte (Narkose nach der Infektion). Es ist demnach zu schließen, daß nur ein Zusammenhang zwischen der Wirkung des Chloroforms auf die Wirtspflanze einerseits und den Befall derselben durch den Parasiten andererseits besteht; die Narkose des Pilzes spielt dabei keine Rolle.

Von weiterem Interesse war nachzuprüfen, ob die Wirkung des Chloroforms auf die Bohnen und auf ihren Befall durch *Uromyces* auf einer vor-

[1]) Hierbei muß noch bemerkt werden, daß die Bohnenpflanzen, die gleichzeitig mit den Sporen in denselben Kästen der Narkose ausgesetzt wurden, bei den Chloroformkonzentrationen von 97 und 116 ccm schon in einigen Stunden nach Beginn der Narkose eingingen; die mit 77 ccm Chloroform behandelten starben nach wenigen Tagen ab.

Tabelle 23.

Einfluß der 12stündigen Chloroformnarkose der Uredosporen von *Uromyces appendiculatus* auf den Befall von nichtnarkotisierten Bohnenpflanzen.

Verfahren		Zahl der Infektionsstellen pro qcm
1. Versuch		
1. Kontrollpflanzen ohne Infektion		keine
2. Infektion mit nichtnarkotisierten Sporen		16,27 ± 0,79
3. Infektion mit narkotisierten Sporen	Narkose mit 19 ccm Chloroform	14,46 ± 0,88
4.	„ „ 38 „ „	15,93 ± 1,07
5.	„ „ 58 „ „	14,43 ± 0,69
2. Versuch		
1. Kontrollpflanzen ohne Infektion		keine
2. Infektion mit nichtnarkotisierten Sporen		11,45 ± 1,06
3. Infektion mit narkotisierten Sporen	Narkose mit 77 ccm Chloroform	14,28 ± 0,88
4.	„ „ 97 „ „	14,90 ± 1,48
5.	„ „ 116 „ „	14,68 ± 1,08

übergehenden narkotischen Wirkung dieses Stoffes beruht, oder ob es sich um eine giftige, irreversible Schädigung der Pflanzen handelt.

Zu diesem Zweck wurde ein 12stündiger Chloroformnarkoseversuch mit denselben Chloroformkonzentrationen, wie in Tabelle 19 angegeben, und bei den gleichen Außenbedingungen ausgeführt und einmal wiederholt, nur mit dem Unterschied, daß die Pflanzen nicht sofort nach der Narkose, sondern erst nach Verlauf von 44 Stunden infiziert wurden. Die Flächen der Blätter wurden zum erstenmal vor der Narkose, zum zweitenmal kurz vor der Infektion, d. h. rund zwei Tage nach der Narkose und schließlich noch ein drittesmal beim Zählen der Infektionsstellen, etwa sieben Tage nach der Infektion gemessen.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 24 angegeben. Betrachtet man zunächst die Anzahl der Infektionsstellen, so sieht man, daß die Narkose nach Ablauf von 44 Stunden keinen Einfluß mehr auf die Bildung derselben ausgeübt hat. Der Unterschied im Grad des Befalles ist selbst bei den mit der stärksten Dosis narkotisierten Pflanzen gegenüber dem Befallsgrad bei den unbehandelten Parallelexemplaren kaum nennenswert, weil er im Bereiche des mittleren Fehlers sich befindet (der $\frac{D}{m_D}$-Wert ist weit unter 0,5).

Was das Wachstum der Blätter anbetrifft, so sieht man aus derselben Tabelle 24, daß die Zunahme der Blattfläche während der ersten zwei Tage nach der Narkose bei den narkotisierten und den nichtnarkotisierten Pflanzen sich sehr stark unterscheidet: sie ist nämlich bei den narkotisierten, im Vergleich zu den Kontrollpflanzen, gehemmt, und zwar um so stärker, je größer die Chloroformkonzentration ist.

Tabelle 24.

Einfluß der 12stündigen Chloroformnarkose 44 Stunden vor der Infektion auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	1. Versuch			2. Versuch		
	Zunahme der Blattfläche in % während der ersten 2 Tage nach der Narkose	Zunahme der Blattfläche in % während 7 Tagen nach der Infektion	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in % während der ersten 2 Tage nach der Narkose	Zunahme der Blattfläche in % während 7 Tagen nach der Infektion	Zahl der Infektionsstellen
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	148 ± 18,7*)	215 ± 55,4*)	—	97 ± 6,9	195 ± 21,2	—
2. Narkose mit 38 ccm Chloroform Ohne Infektion	99 ± 15,9*)	200 ± 37,4*)	—	66 ± 3,4	234 ± 12,4	—
3. Ohne Narkose Infiziert	95 ± 15,4	79 ± 22,6	0,70 ± 0,34	114 ± 6,8	196 ± 21,2	9,90 ± 2,11
4. Narkose mit 19 ccm Chloroform Infiziert	78 ± 11,8	72 ± 7,7	0,59 ± 0,22	100 ± 7,5	215 ± 20,1	9,30 ± 1,72
5. Narkose mit 38 ccm Chloroform Infiziert	55 ± 7,8	81 ± 12,5	0,81 ± 0,32	79 ± 5,4	236 ± 18,1	10,91 ± 1,52
6. Narkose mit 58 ccm Chloroform Infiziert	35 ± 5,7	62 ± 13,6	0,85 ± 0,32	55 ± 3,2	194 ± 17,8	9,07 ± 1,90

Bemerkung: Die Zunahme der Blattflächen bei den mit *) bezeichneten Kontrollpflanzen unterscheidet sich stark von allen anderen dadurch, daß diese Pflanzen von einer um ca. 2 Tage früheren Aussaat stammen.

Im Laufe der nächsten sieben Tage dagegen scheint das weitere Wachstum der Blätter von der Narkose nicht mehr beeinflußt zu werden: die Zunahme der Blattfläche, ausgerechnet in Prozent, bezogen auf die ursprüngliche (vor der Narkose gemessene) Größe der Blätter, ist wieder ausgeglichen, so daß zwischen den narkotisierten und den nichtnarkotisierten Pflanzen kaum mehr ein außerhalb der Grenzen des mittleren Fehlers liegender Unterschied vorhanden ist.

Man darf also auf Grund der Ergebnisse dieses Versuches schließen, daß die hemmende Wirkung, die eine 12stündige Chloroformnarkose sowohl auf den Befall der Bohnenpflanzen durch *Uromyces appendiculatus* als auch auf die Pflanze selbst ausübt, tatsächlich auf der vorübergehenden, nicht länger als zwei Tage dauernden narkotischen Wirkung des Chloroforms beruht.

b) Versuche mit Äthernarkose.

Die noch zur Verfügung übergebliebene Zeit erlaubte uns nicht, die Versuche mit Äther- und mit Alkoholnarkose in einem solchen Umfang vorzunehmen, wie sie mit der Chloroformnarkose ausgeführt worden sind. Es wurden nur 2 und 12 Stunden lang dauernde Versuche angesetzt, je zwei parallel nebeneinander mit je einer Infektion vor und nach der Narkose. Die Ergebnisse der Äthernarkoseversuche sind in Tabellen 25 und 26 angegeben. Betrachtet man den Einfluß der 2stündigen Äthernarkose auf den Befall der Bohnenpflanzen durch Uromyces, so sieht man aus Tabelle 25, daß die Anzahl der Infektionsstellen auf den Blättern der narkotisierten Pflanzen geringer ist als auf den Blättern der Kontrollpflanzen. Der Unterschied ist besonders deutlich auf den vor der Infektion

Tabelle 25.

Einfluß der 2stündigen Äthernarkose auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	a) Narkose vor der Infektion		b) Narkose nach der Infektion	
	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	448 ± 66,9	—	251 ± 32,8	—
2. Narkose mit 446 ccm Äther Ohne Infektion	408 ± 56,7	—	270 ± 56,4	—
3. Ohne Narkose Infiziert	336 ± 41,2	8,17 ± 0,51	238 ± 30,7	1,46 ± 0,24
4. Narkose mit 223 ccm Äther Infiziert	360 ± 32,1	8,31 ± 0,65	263 ± 26,3	1,73 ± 0,33
5. Narkose mit 446 ccm Äther Infiziert	414 ± 32,6	5,78 ± 0,58	276 ± 33,6	1,15 ± 0,19
6. Narkose mit 669 ccm Äther Infiziert	406 ± 55,4	5,62 ± 0,82	233 ± 29,9	1,04 ± 0,19

Tabelle 26.
Einfluß der 12 stündigen Äthernarkose auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	a) Narkose vor der Infektion		b) Narkose nach der Infektion	
	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	835 ± 91,0	—	429 ± 32,0	—
2. Narkose mit 386 ccm Äther Ohne infektion	789 ± 56,3	—	416 ± 43,6	—
3. Ohne Narkose Infiziert	700 ± 77,6	5,59 ± 0,59	426 ± 40,9	3,72 ± 1,04
4. Narkose mit 193 ccm Äther Infiziert	597 ± 33,9	6,26 ± 0,62	351 ± 29,0	3,43 ± 0,98
5. Narkose mit 386 ccm Äther Infiziert	615 ± 53,3	6,05 ± 0,51	309 ± 19,0	2,43 ± 0,69
6. Narkose mit 580 ccm Äther Infiziert	535 ± 43,5	3,83 ± 0,34	267 ± 27,3	1,49 ± 0,65

narkotisierten Exemplaren, wo der $\frac{D}{m_D}$-Wert bei starker Dosis 2,6, derjenige der mittelstark narkotisierten 3,1 beträgt. Die Anzahl der Befallsstellen auf den nach der Infektion narkotisierten Pflanzen ist weniger von der der Kontrollindividuen verschieden und liegt selbst bei den stark narkotisierten Pflanzen weit im Bereiche des mittleren Fehlers.

Der Einfluß der 12 stündigen Äthernarkose auf den Befall der Bohnenpflanzen durch *Uromyces* verläuft ungefähr in derselben Richtung wie bei den 12 stündigen Chloroformnarkoseversuchen. Die Anzahl der Infektionsstellen ist, wie aus Tabelle 26 ersichtlich, bei den stark narkotisierten Pflanzen gegenüber den Kontrollpflanzen beträchtlich kleiner, und der Unterschied liegt ungefähr an der Grenze des mittleren Fehlers. Der Befallsgrad der mittelstark bzw. schwach narkotisierten Pflanzen ist in dem ersten Versuche (Narkose vor der Infektion) etwas größer, in dem zweiten (Narkose nach der Infektion) etwas kleiner als bei der Kontrolle; die Differenzen aber bewegen sich weit in den Grenzen des mittleren Fehlers.

Das Wachstum der Blätter scheint durch die 2 stündige Äthernarkose ganz unbeeinflußt geblieben zu sein (Tabelle 25), dagegen wurde die Blattzunahme bei den 12 stündigen Äthernarkoseversuchen, ähnlich wie es sich bei der 12 stündigen Chloroformbehandlung ergeben hat, durch die Narkose gehemmt. Das sieht man deutlich an der Vergrößerung der Blattfläche in Tabelle 26. Die Blattgröße der stark narkotisierten Pflanzen ist nämlich in den beiden Parallelversuchen bedeutend kleiner gegenüber den nicht narkotisierten, dann nimmt sie bei den mittel bzw. schwach narkotisierten mehr oder weniger zu und erreicht das Maximum bei den nicht narkotisierten Individuen.

Um festzustellen, ob die 12stündige Äthereinwirkung, bei der das Wachstum der Blätter bzw. des Stengels in den ersten 7 Tagen nach der Narkose gehemmt wurde, irgendeine Nachwirkung auf die weitere Entwicklung der Bohnenpflanzen auszuüben vermag, wurden die Pflanzen eines 12stündigen Äthernarkoseversuches für längere Zeit ins Treibhaus gebracht. Nach zirka $2\,{}^1/_2$ Monaten war zwischen den ätherisierten Pflanzen und der Kontrolle im Wachstum kaum ein Unterschied zu merken. Auch die dennoch reiche Blütenbildung war auf sämtlichen Pflanzen ziemlich gleichmäßig. Doch für die Bildung der Früchte waren die Bedingungen im Treibhaus recht ungünstig: von sämtlichen Pflanzen wurden nur wenige kleine Hülschen gesammelt, und zwar von 10 Kontrollpflanzen 3, von den schwachnarkotisierten Pflanzen 5, von den mittelstarknarkotisierten 6 und von den starknarkotisierten nur ein einziges. Diese Zahlen sind aber so klein, daß die Differenzen aller Wahrscheinlichkeit nach eher auf den Zufall als auf die Narkosenachwirkung zurückzuführen sind.

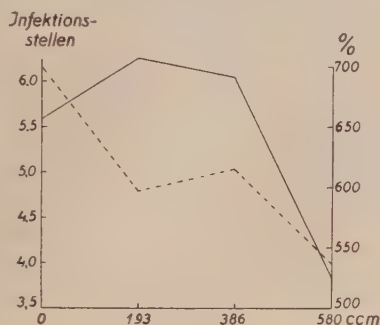


Abb. 11.
Beziehung zwischen der Anzahl der Infektionsstellen (ausgezogene Kurve) und der Zunahme der Blattfläche (punktierte Kurve) der 12 Stunden lang mit drei verschiedenen Ätherkonzentrationen vor der Infektion narkotisierten und der nichtnarkotisierten Bohnenpflanzen. 0 = ohne Narkosebehandlung.

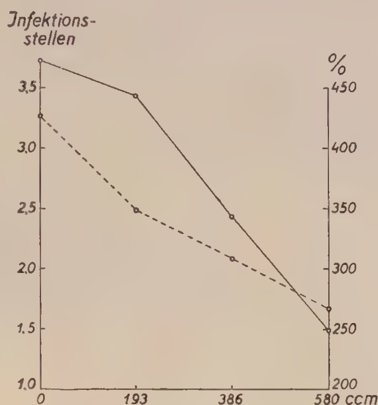


Abb. 12.
Beziehung zwischen der Anzahl der Infektionsstellen (ausgezogene Kurve) und der Zunahme der Blattfläche (punktierte Kurve) der 12 Stunden lang mit drei verschiedenen Ätherkonzentrationen nach der Infektion narkotisierten und der nichtnarkotisierten Bohnenpflanzen. 0 = ohne Narkosebehandlung.

Die Beziehungen zwischen der Wirkung der 12stündigen Äthernarkose auf den Befall der Bohnen durch *Uromyces appendiculatus* und der Wirkung auf das Wachstum der Blätter veranschaulichen die Abb. 11 und 12, wo auf der Abzisse die Ätherkonzentrationen, auf der linken Ordinate die Infektionsstellen je qcm des Blattes und auf der rechten Ordinate die Zunahme der Blattfläche aufgetragen sind.

Aus dem, was oben über die Wirkung der Äthernarkose gesagt ist, geht hervor, daß sie sowohl in Hinsicht auf den Befall der Pflanze

Tabelle 27.

Einfluß der 2stündigen Alhoholnarkose auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	a) Narkose vor der Infektion		b) Narkose nach der Infektion	
	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	282 ± 27,1	—	402 ± 57,3	—
2. Narkose mit 21 ccm Alkohol Ohne Infektion	291 ± 32,6	—	401 ± 45,3	—
3. Ohne Narkose Infiziert	289 ± 22,3	4,34 ± 0,41	242 ± 14,4	1,65 ± 0,52
4. Narkose mit 10 ccm Alkohol Infiziert	264 ± 15,9	4,18 ± 0,31	246 ± 21,5	1,37 ± 0,39
5. Narkose mit 21 ccm Alkohol Infiziert	243 ± 35,1	4,63 ± 0,28	208 ± 15,1	1,18 ± 0,33
6. Narkose mit 31 ccm Alkohol Infiziert	261 ± 21,4	4,09 ± 0,31	222 ± 18,6	1,16 ± 0,31

durch den Parasiten als auch hinsichtlich des Einflusses auf die Wirtspflanze selbst, (d. h. auf das Wachstum der Blätter bzw. des Stengels) im großen ganzen eine ähnliche Wirkung ausübt, wie das bei der Chloroformnarkose der Fall war: eine länger andauernde (12 Stunden) Äthernarkose, besonders mit der stärksten Konzentration (580 ccm) muß sicher hemmend wirken sowohl auf die Bildung der Infektionsstellen als auf die Zunahme der Blattfläche.

c) Versuche mit Alkoholnarkose.

2stündige Alkoholnarkose, deren Ergebnisse in Tabelle 27 zusammengefaßt sind, blieb ohne irgendeine nennenswerte Wirkung. Die Anzahl

Tabelle 28.

Einfluß der 12stündigen Alkoholnarkose auf den Befall von *Phaseolus vulgaris* durch *Uromyces appendiculatus*.

Verfahren	a) Narkose vor der Infektion		b) Narkose nach der Infektion	
	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen	Zunahme der Blattfläche in %	Zahl der Infektionsstellen
1. Ohne Narkose Ohne Infektion	371 ± 45,2	—	423 ± 29,9	—
2. Narkose mit 15 ccm Alkohol Ohne Infektion	273 ± 21,2	—	386 ± 52,2	—
3. Ohne Narkose Infiziert	389 ± 61,4	10,23 ± 1,13	406 ± 37,2	2,29 ± 0,65
4. Narkose mit 7,5 ccm Alkohol Infiziert	357 ± 47,5	9,97 ± 1,08	425 ± 32,0	1,60 ± 0,49
5. Narkose mit 15 ccm Alkohol Infiziert	314 ± 40,6	7,83 ± 1,30	388 + 22,7	1,38 ± 0,40
6. Narkose mit 22 ccm Alkohol Infiziert	235 ± 29,7	6,64 ± 0,89	340 ± 29,8	0,53 ± 0,11

der hervorgebrochenen Infektionsstellen sowie die Zunahme der Blattfläche der narkotisierten Pflanzen bewegen sich nämlich im Vergleich mit denjenigen der Kontrollpflanzen weit im Bereiche des mittleren Fehlers. Ein Unterschied zwischen der Narkose vor der Infektion und der Narkose nach der Infektion besteht hier nicht.

Die Ergebnisse der 12stündigen Alkoholnarkose (Tabelle 28) stimmen

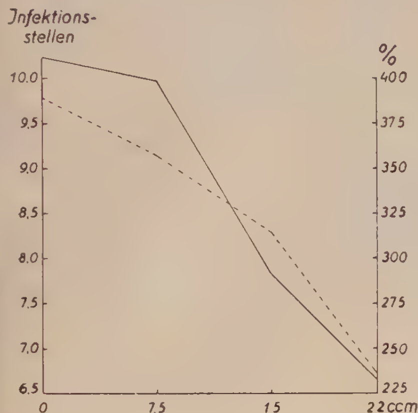


Abb. 13.
Beziehung zwischen der Anzahl der Infektionsstellen (ausgezogene Kurve) und der Zunahme der Blattfläche (punktierte Kurve) der 12 Stunden lang mit drei verschiedenen Alkoholkonzentrationen vor der Infektion narkotisierten und der nichtnarkotisierten Bohnenpflanzen. 0 = ohne Narkosebehandlung.

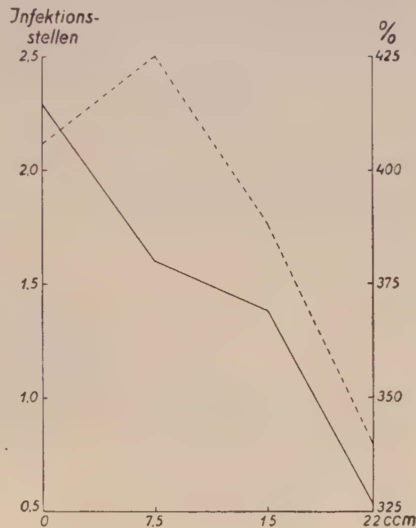


Abb. 14.
Beziehung zwischen der Anzahl der Infektionsstellen (ausgezogene Kurve) und der Zunahme der Blattfläche (punktierte Kurve) der 12 Stunden lang mit drei verschiedenen Alkoholkonzentrationen nach der Infektion narkotisierten und der nichtnarkotisierten Bohnenpflanzen. 0 = ohne Narkosebehandlung.

wiederum mit denjenigen der 12stündigen Chloroformnarkose überein: die Anzahl der Infektionsstellen ist auf den starknarkotisierten Pflanzen bedeutend kleiner als auf den nichtnarkotisierten; dabei sind die $\frac{D}{m_D}$-Werte verhältnismäßig groß, im ersten Versuch (Narkose vor der Infektion) nämlich 2,5, im zweiten (Narkose nach der Infektion) 2,6. Mit der Abnahme der Alkoholkonzentration nimmt auch die Anzahl der Infektionsstellen in beiden Versuchen regelmäßig zu, bei den Kontrollpflanzen ist sie maximal. Der Unterschied zwischen der Narkosewirkung vor und nach der Infektion ist auch hier unwesentlich.

Auch das Wachstum der Blätter ist durch die 12stündige Narkose, insbesondere bei den der stärksten Konzentration ausgesetzten Pflanzen, deutlich gehemmt, wie das aus derselben Tabelle 28 ersichtlich ist.

Die Beziehungen zwischen dem Befall der Bohnen durch *Uromyces* und der Zunahme der Blattfläche bei der 12stündigen Alkoholnarkose sind

graphisch in Abb. 13 und 14 dargestellt (auf der Abszisse sind die Alkoholkonzentrationen, auf der linken Ordinate die Anzahl der Infektionsstellen pro qcm des Blattes, auf der rechten Ordinate die Zunahme der Blattfläche in % verzeichnet).

Sämtliche Ergebnisse der Narkoseversuche mit *Phaseolus vulgaris* als Wirtspflanze und *Uromyces appendiculatus* als Parasit können wir kurz folgendermaßen zusammenfassen:

1. Wirkung der Narkose auf den Befall der Bohnen durch *Uromyces:* a) Kurzdauernde Narkose, nämlich eine 15minutige (die nur mit Chloroform ausgeführt worden ist) und eine 2stündige ließen keine merkliche Wirkung wahrnehmen. b) Bei der 12stündigen Narkose wurden die Blätter der starknarkotisierten Pflanzen in allen Fällen bedeutend weniger vom Pilz befallen als bei den nichtnarkotisierten Kontrollpflanzen; die Blätter der mit mittelstarker Dosis behandelten Bohnen wurden meistens auch weniger befallen als die der Kontrollpflanzen, aber die Unterschiede bewegen sich weit im Bereiche des mittleren Fehlers. Bei den schwachnarkotisierten Pflanzen waren überhaupt keine regelmäßigen Wirkungen der Narkose und keine deutlichen Unterschiede hinsichtlich des Befalles der narkotisierten und der Kontrollindividuen durch den Pilz festzustellen. c) durch die 48stündige Narkose, die nur mit Chloroform ausgeführt worden ist, wurde der Befall der Bohnenpflanzen durch *Uromyces* noch mehr herabgesetzt als durch die 12stündige Narkose. d) Die Parallelversuche, wo in dem einen nur die Pflanzen (Narkose vor der Infektion), in dem anderen mit Pilzsporen infizierte Wirtspflanzen (Narkose nach der Infektion) narkotisiert worden sind, ließen hinsichtlich des Befalles der Pflanzen durch den Parasiten keine prinzipiellen Unterschiede wahrnehmen. Diese Tatsache läßt vermuten, daß die von uns verwendeten Narkotikakonzentrationen, die bei einer hinlänglich ausgedehnten Wirkungsdauer der Narkose auf die Bohnenpflanzen eine deutliche und zwar hier eine hemmende Wirkung ausüben, keinen, wenigstens keinen merklichen Einfluß auf die Sporen von *Uromyces*parasiten haben. Die Unbeeinflußbarkeit der *Uromyces*sporen durch das Chloroform in den von uns verwendeten Konzentrationen hat sich auch bei den speziell vorgenommenen Sporennarkoseversuchen bestätigt (vgl. Tabelle 23).

2. Wirkung der Narkose auf das Wachstum der Bohnenpflanzen: a) der Einfluß einer 15minutigen und einer 2stündigen Narkose war überall noch kein nennenswerter. b) 12stündige Narkose mit allen drei Narkotika und 48stündige Narkose mit Chloroform erwiesen sich, wenigstens bei den stärksten Konzentrationen, als deutlich hemmend auf das Wachstum der Blätter als auch des Stengels.

3. Ein Zusammenhang zwischen der Wirkung der Narkose auf das Wachstum der Wirtspflanze und auf den Befall derselben durch *Uromyces* war überall mehr oder weniger wahrnehmbar, und zwar nahm dort, wo

das Wachstum der Blätter (bzw. des Stengels) durch die Narkose deutlich gehemmt wurde, auch der Befall der Blätter durch den Pilz ab. Diese Tatsache, sowie die oben erwähnte Unbeeinflußbarkeit der Sporen durch die verwendeten Konzentrationen der Narkotika läßt vermuten, daß die Verminderung des Befalls der Bohnenpflanzen durch *Uromyces appendiculatus* auf der durch die Narkose in irgend einer Weise herabgesetzten Empfänglichkeit der Wirtspflanze beruht.

4. Auf Grund der Ergebnisse eines weiteren, speziell vorgenommenen Kontrollversuches erwies sich die weitere Annahme als möglich, daß eine wenigstens makroskopisch wahrnehmbare Wirkung der Narkose sowohl auf den Befall der Bohnenpflanzen durch den Parasiten als auch auf das Wachstum der Wirtspflanzen selbst nur vorübergehend ausgeübt wird und nicht länger als 2 Tage dauert.

VII. Schlußbetrachtungen.

Auf Grund der Ergebnisse der oben besprochenen Versuche, die nur mit zwei verschiedenen Wirtspflanzen und zwei parasitischen Pilzen ausgeführt worden sind, ist es zulässig anzunehmen, daß, wie neulich auch Volk (1931) ausführte, die Wirkung der Narkose auf die Empfänglichkeit für bzw. Widerstandsfähigkeit der Pflanzen gegen Pilzkrankheiten eine mannigfaltigere ist, als bis jetzt angenommen wurde.

Betrachtet man zunächst die Wirkungsweise der von uns verwendeten Narkotika auf ein und dieselbe Pflanzenart und das Verhalten der beiden Pflanzenarten gegen ein und dasselbe Narkotikum, so sieht man einerseits, daß die Wirkungen des Chloroforms, des Alkohols und des Äthers ungleichartig sind. Dies ist z. B. bei den Narkoseversuchen mit Blumenkohl der Fall, wo Chloroform als stark beschleunigend, Alkohol als schwach beschleunigend und Äther als wirkungslos auf das Wachstum der Pflanze sich erwies; andererseits ist auch das Verhalten verschiedener Pflanzenarten zu den Narkotika ungleichartig. Während Blumenkohl bei genügend langer Einwirkungsdauer der entsprechend dosierten Chloroformnarkose, zum Teil auch bei der Alkoholnarkose, im Wachstum beschleunigt wurde, bei der Äthernarkose aber überhaupt keine merkliche Beeinflussung zeigte, wurden Bohnenpflanzen bei gleicher Einwirkungsdauer und entsprechend gleicher Dosierung aller drei Narkotika im Wachstum gehemmt.

Ferner zeigt sich eine Verschiedenheit in bezug auf den Befall durch die beiden Parasiten. *Alternaria brassicae* hat die Neigung, die Blumenkohlpflanzen ohne Unterschied, ob sie durch die Narkose in ihren Lebensfunktionen (in unserem Falle in erster Linie im Wachstum) geschwächt oder gefördert sind, zu befallen; der Befall der Bohnenpflanzen durch *Uromyces appendiculatus* geht dagegen in gleicher Richtung wie die Wirkung der Narkose auf die Wirtspflanze: die durch die Narkose geschwächten Pflanzen werden auch von dem Parasiten weniger befallen, im Vergleich

zu den normalen, d. h. nichtnarkotisierten Kontrollpflanzen. Es wäre möglich anzunehmen, daß dieses ungleiche Verhalten der beiden Parasiten bei dem einen auf der Eigenschaft des fakultativen Parasitismus, bei dem anderen auf der Eigenschaft des obligaten Parasitismus beruht. Mit dieser Annahme stimmen die in der Einführung besprochenen Volkschen Versuche überein, wo die Resistenz der Roggenpflanzen gegen den obligaten Parasiten *Puccinia dispersa* durch die Narkose in schwachem Maße erhöht, dagegen die Resistenz der Rüben- bzw. Tomatenpflanzen gegen die fakultativen Parasiten *Phoma betae*, *Phytophthora infestans* und *Cladosporium fulvum* vermindert wurde.

Obwohl der Einfluß der Narkose auf die beiden Pilze, *Alternaria brassicae* und *Uromyces appendiculatus*, für sich allein von uns nicht untersucht worden ist, hat sich uns doch aus manchen Erscheinungen, die bei den mit der jeweiligen Wirtspflanzenart vorgenommenen Narkoseversuchen beobachtet wurden, die Vermutung aufgedrängt, daß die Wirkung der Narkose auch auf die beiden Parasitenarten nicht die gleiche sei. Während beispielsweise ein stärkerer Befall (im Vergleich mit den Kontrollpflanzen) der 48 Stunden lang nach der Infektion mit der stärksten Chloroformkonzentration behandelten Blumenkohlpflanzen durch die Wirkung der Narkose auf die *Alternaria*sporen bedingt zu sein scheint (wobei der Befallsgrad in keinem ursächlichen Zusammenhang mit dem durch die Narkose bewirkten Wachstum der Wirtspflanze steht), sind die Unterschiede im Befall der narkotisierten und der nichtnarkotisierten Bohnenpflanzen durch *Uromyces appendiculatus* nur auf die Wirkung der Narkose auf die Pflanze selbst, nicht aber auf die Wirkung der Narkose auf die Sporen zurückzuführen. Dies geht aus der Tatsache hervor, daß in den Parallelversuchen, wo mit der Wirtspflanze gleichzeitig auch die *Uromyces*sporen narkotisiert worden sind (Narkose nach der Infektion), die Befallsstärke im allgemeinen gleichartig verläuft wie die Erkrankung in den Hauptversuchen (Narkose vor der Infektion), wo die narkotisierten Pflanzen mit den nichtnarkotisierten *Uromyces*sporen beimpft worden sind. Daß der *Uromyces*parasit durch die Narkose unbeeinflußt bleibt, haben auch die speziell vorgenommenen Sporennarkoseversuche bestätigt.

Zitierte Literatur.

Bolle, P. C., 1924, Die durch Schwärzepilze erzeugten Pflanzenkrankheiten. Medeel. Phytopath. Labor. W. C. Scholten, 7, S. 77.

Collander, R., 1921, Über die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Sulphosäurefarbstoffe. Jahrb. f. wiss. Bot., **60**, 354—407.

Czaja, A. Th., 1924, Reizphysiologische Untersuchungen an *Aldrovandia vesiculosa*. Pflügers Arch. f. die ges. Physiol., **206**, 435—458.

Czapek, Fr., Dr. phil. et med., 1921, Biochemie der Pflanzen, Bd. III, Jena, S. 852.

Coupin, H., 1899, Action des vapeurs anesthésiques sur la vitalité des graines sèches et des grains humides. Compt. rend. hebd. des séances de l'acad. des sciences, **129**, 561—562.

Elfving, F., 1885—1886, Über die Einwirkung von Äther und Chloroform auf die Pflanzen. Oefversicht of Finska Vetensk. Societ. Förhandl., **28** (zitiert nach Kegel, 1905).

Fischer, E., Dr. und Gäumann, E., Dr., 1929, Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze, Jena, S. 428.

Gerber, M. C., 1902, Influence des vapeurs d'éther sur la respiration des fruits charnus. Compt. rend. hebd. des séances et mém. de la soc. de biologie, **54**, 1320—1322.

Heckel, E., 1876, Du mouvement dans les poils et les laciniations foliaires du *Drosera rotundifolia* et dans les feuilles du *Pinguicula vulgaris*. Compt. rend. hebd. des séances de l'acad. des sciences, **92**, 525—526.

Heilbronn, A., 1914, Zustand des Plasmas und Reizbarkeit. Jahrb. f. wiss. Bot., **54**, 357—390.

Höber, R., Dr. med., 1926, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig, S. 955.

Johannsen, W., 1906, Das Ätherverfahren beim Frühtreiben. Jena, S. 65.

Jordi, E., Dr., 1916, Über die Empfänglichkeit von *Phaseolus vulgaris* L. für Bohnenrost. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., **26**, 374—375.

Josing, E., 1901, Der Einfluß der Außenbedingungen auf die Abhängigkeit der Protoplasmaströmung vom Licht. Jahrb. f. wiss. Bot., **36**, 197—228.

Kauffmann, C., 1899, Über Einwirkung der Anästhetica auf das Protoplasma und dessen biologisch-physiologischen Eigenschaften. Inaugural-Dissertation.

Kegel, W., 1905, Über den Einfluß von Chloroform und Äther auf die Assimilation von *Elodea canadensis*. Inaugural-Dissertation Göttingen.

Kosinski, J., 1902, Die Atmung bei Hungerzuständen und unter Einwirkung von mechanischen und chemischen Reizmitteln bei *Aspergillus niger*. Jahrb. f. wiss. Bot., **37**, 137—204.

Kruseman, W. M., 1931, De invloed van temperatuur en narkose op het transport der assimilaten. Dissertation. Purmerend, S. 127.

Kurzwelly, W., 1903, Über die Widerstandsfähigkeit trockener pflanzlicher Organismen gegen giftige Stoffe. Jahrb. f. wiss. Bot., **38**, 291—341.

Lakon, G., Dr., 1916, Empfänglichkeit von *Phaseolus vulgaris* L. und *Phaseolus multiflorus* Willd. für Bohnenrost und andere Krankheiten. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., **26**, 33—97.

Lepeschkin, W. W., 1911, Über die Einwirkung anästhesierender Stoffe auf die osmotischen Eigenschaften der Plasmamembran. Ber. d. deutsch. bot. Ges., **29**, 349—355.

Lullies, H., 1925, Über die Beeinflussung der Permeabilität von Pflanzenzellen durch Narkotika. Pflügers Arch. f. ges. Physiol., **207**, 8—23.

Mansfeld, G., 1912, Narkose und Sauerstoffmangel. Pflügers Arch. f. ges. Physiol., **143**, 175—184.

Morkowine, N., 1899, Recherches sur l'influence des anesthésiques sur la respiration des plantes. Rev. gén. de bot., **11** (zitiert nach Kegel, 1905).

Mothes, K., 1926, Ein Beitrag für Kenntnis des Stickstoffwechsels höherer Pflanzen. Planta **1**, 472—552.

Nadson, G. A. und Meisl, M. N., 1926, Le mécanisme de l'action du Chloroforme sur la matière vivante. Compt. rend. hebd. des séances de l'acad. des sciences, **183**, 82—83.

Reed, S. H. and Cooley, J. S., 1912, *Heterosporium variabile* Cke., its relation to *Spinacia oleracea* and environmental faktors. Centralbl. f. Bakteriol., Parasitenkunde und Infektionskrankh., **32**, Abt. II, 40—58.

Rothert, H., 1904, Über die Wirkung des Äthers und Chloroforms auf die Reizbewegungen der Mikroorganismen. Jahrb. f. wiss. Bot., **39**, 1- 70.

Salmon, E., 1905, Further cultural experiments with biologic forms of the Erisiphaceae. Ann. bot. **19** (zitiert nach Fischer, E. und Gäumann, E., 1929).

Schmid, B., 1901, Über die Einwirkung von Chloroformdämpfen auf ruhende Samen. Ber. d. deutsch. bot. Ges. **19**, 71—76.

Schröder, H., 1908, Über die Einwirkung von Äthyläther auf die Zuwachsbewegung. Flora, **99**, 156—173.

Schröter, A., 1905, Über Protoplasmaströmung bei Mucorineen. Flora **95**, 1—30.

Schubert, N., 1909, Über die Resistenz exsiccatortrockener pflanzlicher Organismen gegen Alkohol und Chloroform bei höheren Temperaturen. Flora, **100** 68—120.

Smith, E. Ph., 1923, Effects of anaesthetics on plants. Nature, **112**, S. 654.

Stakman, E. C., 1915, Relation between *Pucc. graminis* and plants highly resistant to its attack. Journ. of Agricult. research, **4**, 493—499 (zitiert nach Fischer, E. und Gäumann, E., 1929).

Stern, K., 1920, Untersuchungen über Fluoreszenz und Zustand des Chlorophylls in lebenden Zellen. Ber. d. deutsch. bot. Ges., **19**, 71—76.

Téodoresco, E. C. et Coupin, H., 1898, Influence des anesthésiques sur la formation de la chlorophylle. Compt. rend. hebd. des séances de l'acad. des sciences, **127**, 884—887.

Traube, J. und Rosenstein, H., 1919, Über die Wirkung von oberflächenaktiven Stoffen auf Pflanzensamen. Biochem. Zeitschr. **95**, 85—100.

Tröndle, A., 1920, Neue Untersuchungen über die Aufnahme von Stoffen in die Zelle. Biochem. Zeitschr., **112**, 259—285.

Verzar, Fr., 1928, Untersuchungen über den Zusammenhang verschiedener Stoffwechselprozesse bei *Bacterium coli commune*. Biochem. Zeitschr., **91**, 1—45.

Volk, A., 1931, Einflüsse des Bodens, der Luft und des Lichtes auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Krankheiten. Phytopath. Zeitschr., **3**, Heft 1.

Warburg, O., 1919—1920, Über die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäurezersetzung in lebenden Zellen. Biochem. Zeitschr., **100**, 230—270 u. **103**, 188—217.

Warburg, O. und Negelein, E., 1920, Über die Reduktion der Salpetersäure in grünen Zellen. Biochem. Zeitschr., **110**, 66—115.

Weber, F., 1921—1922, Zentrifugierungsversuche mit ätherisierten Spirogyren. Biochem. Zeitschr., **126**, 21—32.

Weber, F., 1922, Reversible Viskositätserhöhung des lebenden Protoplasma bei Narkose. Ber. d. deutsch. bot. Ges., **40**, 212—216.

Winterstein, H., 1926, Die Narkose in ihrer Bedeutung für die allgemeine Physiologie. Berlin.

Aus der phytopathologischen Sektion
des landwirtschaftlichen Institutes Rumäniens.
Direktor: Prof. Dr. Tr. Săvulescu.

Der Einfluß der äußeren Bedingungen auf die Entwicklung der *Nigrospora Oryzae* (B. und Br.) Petch.

Von

Tr. Săvulescu und T. Rayss.

Mit 6 Textabbildungen.

In unseren beiden vorhergehenden Schriften über die *Nigrospora Oryzae* (B. und Br.) Petch.[1] [2]) haben wir den morphologischen und biologischen Charakter dieses Pilzes festgestellt, der bedeutende Schäden in den rumänischen Maisernten von 1929 und 1930 verursachte und den wir auch 1931 wieder festgestellt haben.

In der vorliegenden Arbeit soll der Einfluß der Temperatur und der Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung auf die Keimung der Sporen und die Entwicklung der *Nigrospora Oryzae* (B. und Br.) Petch. behandelt werden.

1. Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Sporen der *Nigrospora Oryzae* und der Verlauf ihrer Entwicklung.

Zur Erforschung des Einflusses der Temperatur auf die Entwicklung der *Nigrospora Oryzae* und auf die Keimung ihrer Sporen, bedienten wir uns eines Serien-Thermostats Hearson, dessen Temperaturgrenzen zwischen 10 und 67° lagen. — Als Nährmedium verwendeten wir einen Maismehl-Extrakt nach dem Dodge-Verfahren (wir ließen 125 g Maismehl in drei Litern Wasser eine Stunde bei 60° und filtrierten dann die so erhaltene Flüssigkeit durch Filtrierpapier); wir wollen diese Lösung kurz als Dodge-Lösung bezeichnen. — Die Kulturen wurden in feuchten Kammern nach van Tieghem und Lemonnier in hängenden Tropfen angelegt. — Vergleichsweise haben wir uns auch der feuchten Kammern mit großem Luftraum bedient, die durch A. van Luijk[3]) empfohlen werden, d. h. der

---

[1]) Săvulescu Tr. et Rayss T., Une nouvelle maladie du maïs en Roumanie provoquée par *Nigrospora Oryzae* (B. et Br.) Petch. Archives roumaines de Pathologie expériment. et de Microbiologie, T. III No. 1 Mars 1930.

[2]) Săvulescu Tr. et Rayss T., Contribution à la connaissance de la Biologie de *Nigrospora Oryzae* (B. et Br.) Petch., parasite du maïs. Recueil de Travaux Cryptogamiques dédiés à Louis Mangin, 233—240 (1931).

[3]) Van Luijk A., Mededeelungen van het Phytopathologisch Laboratorium „Willie Commelin Scholten", Baarn, XI. 58—59 (1927).

Petri-Schalen, deren Deckel eine Öffnung von 3,5 cm im Durchmesser hat, die durch ein Deckgläschen von 40—50 cm Durchmesser bedeckt wird. Die Kulturen werden in hängenden Tropfen direkt auf der Innenseite dieser Deckgläschen angelegt. Als Experimentiermaterial verwendeten wir die den Maiskolben der Ernten aus den Jahren 1929, 1930 und 1931 entnommenen Sporen der *Nigrospora.*

a) Keimfähigkeit der Sporen aus verschiedenen Ernten.

In einer ersten Versuchsreihe sollte festgestellt werden, wie lange normalerweise die Nigrosporasporen ihre Keimfähigkeit behalten. Zur Verwendung kam Sporenmaterial aus kranken Maiskolben der Ernten 1929 und 1930, das am 1. Juni 1931 zur Prüfung der Keimfähigkeit in der oben beschriebenen Art bei verschiedenen Temperaturen angesetzt wurde. Dieser Versuch ergab, daß innerhalb der Temperaturen von 10 bis 30 °C die Sporen des Jahres 1930 sehr gut auskeimten, während unter gleichen Verhältnissen die Sporen des Jahres 1929 nur zu einem ganz geringen Prozentsatz noch Keimfähigkeit zeigten.

Da aber in gewissen Temperaturgrenzen einige Sporen des vorhergehenden Jahres dennoch angekeimt waren, so blieb zu untersuchen, ob Keimfähigkeit und Keimenergie der übrigen durch zu niedrige oder zu hohe Temperaturen lediglich verringert oder aber vernichtet wurden.

Um diese Frage zu klären, haben wir alle Kulturen der optimalen Keimtemperatur der Sporen von 30° ausgesetzt. Dieses Optimum wurde durch eine andere Reihe von Experimenten festgestellt, wie wir weiter unten sehen werden.

Nach zwei Tagen konnten wir beobachten, daß in allen feuchten Kammern, mit Ausnahme derjenigen, die 48 Stunden im Thermostat bei 10° und über 41° gestanden hatten, mehrere Sporen zu keimen begannen und ihre Entwicklung bis zur Bildung neuer Sporen fortsetzten. Dies beweist uns, daß die Sporen der *Nigrospora* nach anderthalb Jahren, zwar nur in geringer Anzahl, keimen, daß aber diejenigen, die diese Fähigkeit bewahrt haben, auch ihre ganze Keimenergie behalten, die sich deutlich unter optimalen Temperaturbedingungen manifestiert.

Wir wiederholten das Experiment mit Sporen aus den gleichen Kolben einige Monate später, im Oktober und November des Jahres 1931. Zu diesem Zeitpunkte hatten die Sporen des Jahres 1929 ihre Keimfähigkeit vollkommen verloren, und die Sporen von 1930 keimten in geringer Anzahl — und vor allem unter optimalen Temperaturbedingungen. Außerdem konnten wir feststellen, daß nur die Sporen, die sich im Inneren des Maiskolbens befanden, ihre relative Keimfähigkeit bewahrt hatten. Diejenigen, die sich auf der Oberfläche der Körner, auf den Bruchflächen des entblößten Kolbens oder auf den abgelösten Fasern des

Marks befanden und so den Wechselwirkungen der Feuchtigkeit und der Temperatur ausgesetzt waren, keimten überhaupt nicht mehr.

Als allgemeine Schlußfolgerung aus dieser Reihe von Experimenten geht hervor:

Die Sporen der *Nigrospora* verlieren zwei Jahre nach ihrer Entstehung vollständig ihre Keimfähigkeit.

Die Sporen der *Nigrospora* verlieren ein Jahr nach ihrer Entstehung die Keimfähigkeit, wenn sie sich auf der Oberfläche des Kolbens, der Körner, der Fasern oder der entblößten und der Luft ausgesetzten Bruchstellen befinden.

Diejenigen, die sich im Inneren des Maiskolbens befinden und so vor den Schwankungen der Luftfeuchtigkeit bewahrt bleiben, behalten zum großen Teil ihre Keimfähigkeit.

Die einjährigen Sporen, die ihre Keimfähigkeit bewahrt haben, bewahren auch ihre vollständige Keimenergie.

Sporen, die weniger als ein Jahr alt sind, besitzen vollkommen sowohl ihre Keimfähigkeit als auch ihre Keimenergie.

b) Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Sporen.

Da wir durch die erste Reihe von Experimenten festgestellt hatten, daß nur bei den relativ jungen Sporen die Keimfähigkeit und die Keimenergie intakt bleiben, haben wir mit diesen Sporen eine andere Reihe von Experimenten angestellt, um den Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Sporen der *Nigrospora* nachzuweisen. Wir haben dieselbe Nährlösung angewandt und in die hängenden Tropfen eine große Anzahl von Sporen eingeführt, um den Prozentsatz der gekeimten Sporen feststellen zu können. Die ausführlichen Resultate dieses Versuches sind in Tabelle 1 enthalten.

Tabelle 1.
Anzahl der gekeimten Sporen.

Temperatur in °C	Nach 5 Stunden %	Nach 8 Stunden %	Nach 24 Stunden %	
10	4	4	4	
11½	6	8	20	
12½	8	10	20	
13½	10	12	50	
16	15	16	60	
17	24	34	80	
20	42	76	100	Optimum
25	56	96	100	Optimum
26	80	96	100	Optimum
30	90	96	100	Optimum
36	4	8	70	
41	4	4	4	
47	0	0	1	
49½	0	0	0	

Die in dieser Reihe von Experimenten erhaltenen Resultate haben wir gleichfalls durch das Diagramm auf Abb. 1 ausgedrückt.

Besprechung der Resultate.

Die Sporen der *Nigrospora* keimen auch bei 10 ° aber in verringerter Anzahl (4 %) und dieser Prozentsatz steigt nicht während der ganzen Dauer des Experimentes. Wir können also die Temperatur von 10 ° als sehr nahe der Minimaltemperatur der Keimung betrachten.

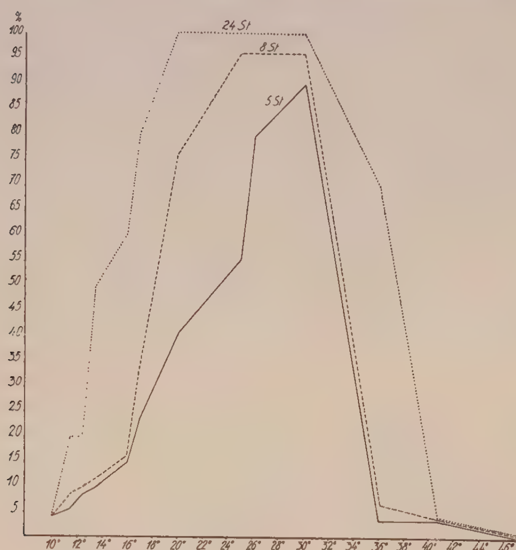


Abb. 1.
Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Keimung der Sporen von *Nigrospora Oryzae*.
Kurven nach 5, 8 und 24 Stunden.

Über 10 % steigt die Anzahl der gekeimten Sporen progressiv, und das Optimum der Keimung liegt nach 5 Stunden bei 30 ° (90 %), nach 8 Stunden zwischen 25 und 30 ° (96 %) und nach 24 Stunden keimen sämtliche Sporen zwischen 20 und 30 ° (100 %). Das wirkliche Optimum ist also bei 30 ° erreicht, da es sich bereits nach 5 Stunden demonstriert. Zwischen 30 und 41 ° tritt ein sehr rascher Abfall der Keimprozentzahl bis auf 4 % ein.

Unsere Kulturen wurden, nachdem sie während 24 Stunden einer Temperatur von 41 ° ausgesetzt waren, auf eine Temperatur von 30 ° zurückgebracht. Nach zwei Tagen fanden wir darin eine große Anzahl gekeimter Sporen. Also keimen die Sporen der *Nigrospora* bei einer Temperatur von 41 ° nur in geringer Zahl, behalten aber vollständig ihre Keimfähigkeit.

Bei 47 ° nach 24 Stunden hatte nur eine einzige Spore gekeimt, aber der aus ihr hervorgegangene Keimschlauch starb alsbald ab. Wir können also die Temperatur von 47 ° als Maximaltemperatur der Keimung betrachten.

c) Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum des Myzeliums und die Bildung neuer Sporen in dampfgesättigter Atmosphäre.

Die Methode war dieselbe wie bei den vorangegangenen Experimenten. Zum Vergleich wurde der jeweils längste Sporenkeimschlauch in jeder feuchten Kammer mit dem Okularmikrometer gemessen. Jeder Mikrometerstrich ist gleich 33 μ. Das Experiment dauerte sieben Tage und die

Beobachtungen wurden nach 15, 24, 48, 60, 96 und 168 Stunden gemacht.

Die analytischen Resultate sind in Tabelle 2 enthalten:

Tabelle 2.
Längenwachstum der Sporenkeimschläuche in Mikrometerstrichen bzw. Bildung neuer Sporen.

Temperatur in ° C	nach Stunden						
	15	24	40	48	60	96	168
	Mikrometerstr.	Mikrometerstrich	Mikrometerstrich	Mikrometerstr.	Mikrometerstr.	Mikrometerstr.	
10	0	5	12	14	17	31	neue Spor.
14	6	9	20	28	50	120	„ „
16	8	14	37	45	80	125 neue Sp.	„ „
18	20	27	52	56	neue Spor.	neue Spor.	„ „
20	20	33	58	70	120 neue Sp.	„ „	„ „
22	23	53 Verzweigung	110 Verzweigung	neue Spor.	neue Spor.	„ „	„ „ Neue Sporen
25	23	Verzweigung	einige neue Sporen	„ „	„ „	„ „	„ „
30	15	Verzweigung	einige neue Sporen	„ „	„ „	„ „	„ „
35	1	6	8	15	die Keimschläuche beginnen abzusterben		
41	1		die Keimschläuche beginnen abzusterben				
45	0		1 einziger Keimschlauch, der sofort abstirbt				
49½	0	0	0	0	0	0	0

Die Darstellung dieser Resultate geht auch aus der Abb. 2 hervor.

Besprechung der Resultate.

Die obige Tabelle und das Diagramm zeigen uns folgende physiologische Eigenheiten der *Nigrospora*:

Bei 10° ist das Wachstum des Myzeliums der *Nigrospora* normal. Die Entwicklung des Myzeliums steigt progressiv mit der Temperatur und der Dauer des Experimentes bis zu 30°.

Nach 15 Stunden ist das Maximum des Wachstums zwischen 22° und 25° und die Keimschläuche erreichen eine Länge von 23 Mikrometerstrichen.

Nach 24 Stunden, zwischen 22° und 30°, beginnen die Keimschläuche sich reichlich unter Büschelbildung zu verzweigen.

Nach 40 Stunden erreichen die Keimschläuche das Maximum ihrer Entwicklung bei 22°, mit einer Länge von 110 Mikrometerstrichen. Zwischen 22° und 30° verzweigen sie sich reichlich und beginnen sogar neue Sporen zu bilden (zwischen 25° und 30°).

Nach 48 Stunden erreicht das Myzelium noch immer das Maximum seiner Entwicklung bei 22° und beginnt von diesem Wärmegrad an bis zu 30° mit neuer Sporenbildung.

Nach 60 Stunden erreicht das Myzelium das Maximum seiner Entwicklung bei 20°, erreicht eine Länge bis zu 120 Mikrometerstrichen und beginnt sich reichlich zu verzweigen. Zwischen 18° und 30° bilden sich neue Sporen.

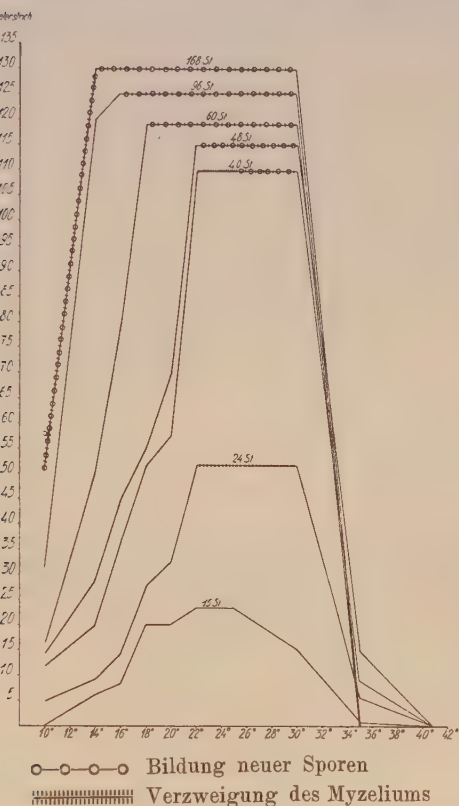


Abb. 2.
Einfluß verschiedener Temperaturen auf das Wachstum des Myzeliums und die Bildung neuer Sporen von *Nigrospora Oryzae* in dampfgesättigter Atmosphäre. Kurven nach 15, 24, 40, 48, 60, 96 und 168 Stunden.

Nach 96 Stunden gelangt das Myzelium bei 16° zum Maximum seiner Entwicklung, erreicht 125 Strich Länge und verzweigt sich reichlich unter neuer Sporenbildung.

Nach 168 Stunden beginnt die Sporen-Neubildung schon von 10° an, aber nur in geringer Anzahl.

Daraus geht hervor, daß neue Sporen sich nach 40 Stunden zwischen 25° und 30° bilden, daß aber allmählich auch bei niedrigeren Temperaturen Sporenbildung eintreten kann, nach sieben Tagen sogar schon bei 10°. Wir haben das Wachstum des Myzeliums und die Bildung neuer Sporen bei Temperaturen unter 10° nicht verfolgt. Über 30° läßt das Wachstum des Myzeliums plötzlich nach, und die Keimschläuche erreichen bei 35° Wärme kaum noch 15 Mikrometerstriche nach zwei Tagen. Bei diesem Wärmegrad treiben die Sporen einen Keimschlauch, der viel dicker ist als der normale; er wächst sehr langsam, verzweigt sich gar nicht und beginnt nach 60 Stunden abzusterben.

Die vereinzelten Sporen, die bei noch höheren Temperaturen gekeimt haben (41°—49°) bildeten Myzelien, die sofort abstarben.

Nach vier Tagen wurden die in Thermostaten bei Temperaturen von über 35° aufbewahrten Kulturen in die Optimal-Temperatur von 30° gebracht. Wir konnten beobachten, daß in den feuchten Kammern, die vier Tage lang bei einer Temperatur von 35° und von 41° standen, die aus den Sporen hervorgegangenen Keimschläuche nicht mehr oder nur sehr langsam und in anormaler Weise wuchsen. Dagegen begannen zahlreiche

neue Sporen zu keimen, und die Keimschläuche verlängerten sich zwar nur wenig, verzweigten sich aber stark und bildeten nach drei Tagen neue Sporen in großer Anzahl. Folglich stellt die Temperatur von 35 ° bis 41 ° das Maximum für das Wachstum des Myzeliums dar, beeinflußt aber nicht die Lebenskraft der Sporen; dies geht übrigens auch aus den vorhergehenden Experimenten hervor.

In denjenigen Kulturen, die vier Tage lang bei der Temperatur von $49^1/_2$ ° gestanden hatten und dann in die Temperatur von 30 ° gebracht wurden, befanden sich einige Sporen mit dünnen und schwächlichen Keimschläuchen, die bald abstarben. Die Sporen der Kulturen von 52 ° keimten nicht mehr. Eine viertägige Aufbewahrung der Nigrosporasporen bei $49^1/_2$ ° wirkt demnach abtötend auf den Zellinhalt.

Alle diese Erfahrungen zeigen, daß die Sporen der *Nigrospora* viel widerstandsfähiger gegen die Einflüsse der hohen Temperaturen sind als das Myzelium dieses Pilzes. Sie sind also als echte Chlamydosporen zu bezeichnen.

Bei den von uns beschriebenen Experimenten haben wir den Einfluß verschiedener Temperaturen auf die Keimung der Sporen und das Wachstum des Myzeliums der *Nigrospora* beobachtet, nachdem sie wenigstens 15 Stunden hindurch den verschiedenen Temperaturen ausgesetzt waren. Um noch genauer die Temperaturgrenzen für die Keimung der Sporen und das Wachstum des Myzeliums festzustellen, setzten wir unsere Kulturen in feuchten Kammern Temperaturen zwischen $49^1/_2$—67 ° aus und zwar während 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30 Minuten, einer Stunde, 6 Stunden und 24 Stunden. Sodann kamen die Kulturen in einen Brutschrank bei optimaler Temperatur (30 °).

Auf Grund der Ergebnisse dieser Versuchsreihe läßt sich folgendes aussagen: Die Sporen der *Nigrospora*, die bis zu 3 Minuten der Temperatur von 67 ° ausgesetzt werden, bewahren noch ihre Keimfähigkeit. Ein Verbleiben in dieser Temperatur während 4 Minuten und darüber ist für sie tödlich. Die Kulturen in den feuchten Kammern, die 1, 2 und 3 Minuten der Temperatur von 67 ° ausgesetzt waren und dann unter optimale Bedingungen bei 30 ° gebracht wurden, zeigten schon nach einem Tage mehrere Keimungen, und nach 4 Tagen bildeten sich in allen diesen Kammern normale neue Sporen.

Bei einer Temperatur von 58 ° sterben die Sporen nach 6 Minuten ab.

Bei einer Temperatur von 53 ° sterben die Sporen nach einer Stunde ab.

Bei 51 ° sterben die Sporen nach 6 Stunden ab. Wenn sie dieser Temperatur 30 Minuten lang ausgesetzt waren, keimten noch mehrere Sporen, und wenn man die betreffenden feuchten Kammern 4 Tage hindurch unter optimalen Bedingungen aufbewahrte, war festzustellen, daß sich reichlich Sporen gebildet hatten. Nach einstündigem Aufenthalt bei 51 ° keimten mehrere Sporen, die aber erst neue Sporen bildeten, nach-

dem sie 6 Tage hindurch bei optimaler Temperatur gestanden hatten. Die neuen Sporen entwickelten sich übrigens nur unvollkommen, blieben farblos und ähnelten den Konidien. Nach 15 Tagen waren in denselben Kulturen normale neue Sporen vorhanden, untermischt mit nur unvollkommen ausgebildeten.

Wurden die Kulturen mehr als 6 Stunden lang einer Temperatur von $49^1/_2{}^0$ ausgesetzt, so keimten nur noch vereinzelte Sporen mit einem wenig lebensfähigen Keimschlauch aus. Man kann also die Temperatur von $49^1/_2{}^0$ als schädlich für die Keimung und das Wachstum der Sporen der *Nigrospora* betrachten bei einer Mindesteinwirkungsdauer von 6 Stunden. Nach 30 Minuten und nach einer Stunde in dieser Temperatur keimten viele Sporen ganz normal und bildeten unter optimalen Bedingungen neue Sporen, wiesen aber auch End- und Interkalarschwellungen auf, die kleiner als die Sporen sind, eine verdickte Membran besitzen und dem Myzelium des Pilzes ein sehr eigenartiges und merkwürdiges Aussehen verleihen (Abb. 3). Diese neue Reihe von Experimenten stimmt mit den vorhergehenden überein und präzisiert in noch genauerer Form den Einfluß der hohen Temperaturen auf die Keimung und Entwicklung der Sporen der *Nigrospora*. Die Temperatur von $49^1/_2{}^0$ wirkt tödlich nach 4 Tagen, die von 51^0 nach 6 Stunden, die von 53^0 nach einer Stunde, die von 58^0 nach 6 Minuten, die von 67^0 nach 4 Minuten.



Abb. 3.
Einfluß der Temperatur von $49^1/_2{}^0$ auf die Entwicklung der *Nigrospora* bei einstündiger Einwirkung in dampfgesättigter Atmosphäre. End- und Interkalar-Schwellungen mit verdickter Membran, viel kleiner als die normalen Sporen.

d) Der Einfluß der hohen Temperaturen auf die Widerstandskraft der Sporen der *Nigrospora* in trockenem Zustande.

Bei den vorhergehenden Experimenten haben wir den Einfluß der hohen Temperaturen auf die Keimung der Sporen und das Wachstum des Myzeliums der *Nigrospora* in feuchten Kammern, also in dampfgesättigter Atmosphäre festgestellt. Es blieb uns noch übrig, das Verhalten der Sporen bei hohen Temperaturen unabhängig von den Wirkungen der Feuchtigkeit zu beobachten. Zu diesem Zweck wurden Teilchen des Kolbenmarks aus kranken Kolben der letzten Ernte kurz vor Beginn des Versuchs in kleine Petrischalen gebracht. Einige Sporen, die wir diesen Bruchteilchen entnahmen, wurden in feuchte Kammern unter optimalen Bedingungen als Kontrolle zum Keimen angesetzt.

Die Kolbenfragmente blieben während 5, 10 und 30 Minuten, 1 Stunde, 2 Stunden, 6 Stunden, 12 Stunden, 16 Stunden, 21 Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden der Temperatur von 67^0 ausgesetzt. Danach entnahmen

wir jeder Versuchsgruppe eine große Anzahl von Sporen und säten sie auf Maismehlagar in feuchte Kammern, die unter optimalen Bedingungen bei 30° aufgestellt wurden. Diese feuchten Kammern sind dann nach 24 Stunden, 3 Tagen, 4 Tagen, 5 und 10 Tagen geprüft worden.

An Hand dieser Versuchsreihe ließen sich folgende Beobachtungen machen. Die Sporen der *Nigrospora* behalten noch ihre Keimkraft, nachdem sie 12 Stunden der trockenen Temperatur von 67° ausgesetzt waren.

Nach 16 und 21 Stunden Einwirkungsdauer ist die Keimkraft fast zerstört und nach 24 Stunden haben alle Sporen ihre Keimfähigkeit verloren. Bei den vorhergehenden Experimenten haben wir gesehen, daß die Keimfähigkeit der Sporen bei einer Temperatur von 67° schon nach 4 Minuten vollkommen verloren geht, wenn diese Sporen sich während des Experimentes in feuchten Kammern befinden. Unsere Ergebnisse bestätigen auch die Beobachtungen von Barnes[1]) und Letow[2]) über die vereinigten Einflüsse der Temperatur und der Feuchtigkeit auf die Lebenskraft der Sporen.

Die Sporen, die in trockenem Zustande 5 Minuten lang der Temperatur von 67° ausgesetzt waren, ergaben unter optimalen Bedingungen nach 3 Tagen 80% Keimungen und begannen neue Sporen zu bilden.

Nach 10 Minuten bei 67° und 3 Tagen unter normalen Bedingungen sinkt der Prozentsatz der Keimungen auf 68%, die Myzelfäden tragen typische Schwellungen, die der Bildung neuer Sporen vorangehen, aber diese letzteren erreichen erst nach 4 Tagen den Zustand der vollen Reife.

Bei einer Einwirkungsdauer der Temperatur von 67° während 30 Minuten auf die trockenen Sporen, erreicht die Zahl der Keimungen unter optimalen Bedingungen nach drei Tagen 65% unter Bildung einiger farbloser Schwellungen; nach vier Tagen finden wir nur hier und da ein paar vollkommen ausgebildete Sporen und erst nach fünf Tagen bilden sich mehrere neue Sporen.

Nach einer einstündigen Einwirkung der Temperaturen von 67° finden wir nach drei Tagen unter normalen Bedingungen 60% gekeimter Sporen. Die aus diesen Sporen hervorkommenden Keimschläuche sind lang und verzweigt, ergeben aber noch keine typischen Schwellungen, die der Bildung neuer Sporen vorangehen. Nach vier Tagen erscheinen diese Schwellungen in großer Anzahl und tragen hier und da eine neue, reife Spore. Auch nach fünf und zehn Tagen bleibt die Zahl der neuen Sporen gering.

Nach einer zweistündigen Einwirkung der Temperatur von 67° und nach drei Tagen unter normalen Bedingungen, keimen nur noch 30%

---

[1]) Barnes, B. Variations in *Eurotium herbarivorum* (Wigg.) Link, induced by the Action of High Temperatures. Ann. of Botany, XLII No. CLXVIII, p. 792 (1928).

[2]) Letow, A. 5: Über die Bedeutung der *Sclerotinia Libertiana* Fuckel auf Sonnenblumen, S. 178—179, Phytopathologische Zeitschrift II, Heft 2 (1930).

der Sporen. Die Myzelien sind ziemlich lang und kaum verzweigt. Nach vier Tagen finden wir Schwellungen, die der Bildung neuer Sporen vorangehen und nach fünf Tagen zeigen sich hier und da schwarze Sporen, die auch nach zehn Tagen nur gering an Zahl bleiben.

Nach sechsstündiger Einwirkung der Temperatur von 67° sinkt die Zahl der Sporen, die nach drei Tagen unter optimalen Bedingungen keimen, auf 12%. Die aus den Sporen kommenden Keimschläuche erreichen kaum eine Länge von 22 Mikrometerstrichen, ohne sich zu verzweigen. Nach vier Tagen zeigen sich dort einige Schwellungen, die der Bildung neuer Sporen vorangehen und nach fünf Tagen kommen diese letzteren hier und da zur vollen Entwicklung.

Nach zwölfstündiger Einwirkung der Temperatur von 67° keimen nach drei Tagen unter optimalen Bedingungen noch 10%, die Keimfäden erreichen nur 20 Mikrometerstriche. Nach vier Tagen findet man 28% gekeimter Sporen. Die Keimfäden verzweigen sich ziemlich reichlich und weisen an ihren Umrissen und an ihren Endpunkten anormale Bildungen auf, d. h. kleine Schwellungen von hell- oder dunkelbrauner Färbung, mit stark verdickter Membran, die zweimal kleiner sind als wirkliche Sporen und oft ein glänzendes Tröpfchen in der Mitte haben (Abb. 4). Nach fünf Tagen findet man neben diesen anormalen Bildungen hier und da einige normale neue Sporen und nach zehn Tagen werden diese Sporen etwas zahlreicher, aber die kleinen bräunlichen Schwellungen sind immer noch in ziemlich großer Anzahl vorhanden. Es ist hervorzuheben, daß die Temperatur von 67°, wenn sie zwölf Stunden ununterbrochen auf die Sporen der *Nigrospora* in trockenem Zustande einwirkt, Anomalien in der Keimung dieser Sporen hervorruft, die den aus ihnen hervorgehenden Keimschläuchen ein äußerst merkwürdiges Aussehen verleihen.



Abb. 4.
Einfluß der Temperatur von 67° und zwölfstündiger Einwirkung von trockener Wärme. Anormale Sporenbildung von hellbrauner Farbe mit verdickter Membran, zwei- bis dreimal kleiner als die echten Sporen.

Dieselben Anomalien wurden von uns bei den Kulturen beobachtet, die in feuchten Kammern eine Stunde bei der Temperatur von $49\frac{1}{2}$° gehalten und dann vier Tage lang bei der Temperatur von 30° gelassen wurden (s. Abb. 3). Folglich ist die Fähigkeit zur Bildung solcher Anomalien der *Nigrospora* eigentümlich und entsteht unter dem Einfluß hoher

Temperaturen, wenn die Sporen zwölf Stunden hindurch in trockenem Zustande bei 67° gehalten wurden oder aber eine Stunde lang in der feuchten Kammer der Temperatur von $49^1/_2$° ausgesetzt waren. Das Auftreten dieser Anomalien ist unbestreitbar und bestätigt die Resultate der kürzlich von Barnes[1]) gemachten Experimente. Wir haben aber noch nicht festgestellt, ob diese erworbene Eigenschaft vererbt werden kann.

Die Keimungen nach sechzehnstündigem Aufenthalt der Sporen in trockenem Zustande bei einer Temperatur von 67° haben, wenn sie dann in feuchten Kammern unter optimale Bedingungen zurückversetzt werden, einen rein zufälligen Charakter. Wir können also die Temperatur von 67° als tödlich für die Sporen der *Nigrospora* ansehen, wenn sie sich in trockenem Zustande mehr als sechzehn Stunden darin befinden.

Diese Ergebnisse beleuchten im übrigen sehr gut die Abhängigkeit des Auftretens der *Nigrospora Oryzae* (B. und Br.) Petch von Temperatur und Feuchtigkeit in dem kontinentalen Klima unseres Landes. Das spontane und völlige Erlöschen der betreffenden Krankheit durch die Zusammenwirkungen der hohen Temperatur und der Feuchtigkeit wäre nicht möglich, weil sich bei uns die Temperatur niemals auf 67° unter gleichzeitiger Verbindung mit Feuchtigkeit erhebt. Diese Bedingungen wären in gewissem Maße in den heißen und regnerischen Äquatorialzonen realisierbar. Aber die Heftigkeit, mit der die Krankheit in den Kulturen unseres Landes auftritt, kann durch den Einfluß einer Temperatur von über 35° erheblich vermindert werden, wenn sie in mehr oder minderer Dauer im Augenblick der Bildung und Reife des Maiskolbens auftritt, da dann die Sporen, ohne zwar abgetötet zu werden, ihre Keimfähigkeit bedeutend einbüßen.

Unter normalen Temperaturbedingungen ist die Gefahr der Infektion am stärksten Ende Juli, im ganzen Monat August und Anfang September, wenn der Mais zur Reife gelangt und wenn das übertragende Insekt, *Sitotroga cerealella* Oliv., sich als ausgebildetes Insekt auf den Feldern befindet[2]).

Das Jahr 1930 ist durch einen besonders starken Befall der Maiskolben mit *Nigrospora* gekennzeichnet. Die Krankheit erreichte damals das Maximum ihrer Entwicklung sowohl an Heftigkeit als auch an Ausdehnung. Diese starke Infektion der Felder war von der normalen Temperatur der Monate Juli und August im Verein mit regnerischem Wetter im August begünstigt worden. Das Jahr 1931 war durch das fast völlige Verschwinden

---

[1]) Barnes, B., Variations in *Eurotium herbarivorum* (Wigg.) Link., induced by the action of High Temperatures. Ann. of Botany, XLII, No. CLXVIII (1928). Variations in *Botrytis cinerea* Pers., induced by the action of high temperatures. Ann. of Botany, XLIV, No. CLXXVI (1930).

[2]) Nach G. Arion: Contributiuni la studiul celor două molii care atacă cerealele, *Sitrotoga cerealella* si *Plodia interpunctella*, Buletin. Minist. Agricult. si Domenii. (1915), dieses Insekt bringt noch eine Generation im Frühling und eine im Oktober-November hervor, beide bei der Lagerung auftretend.

der Infektion auf den Feldern charakterisiert, was mit den Temperaturen, die im Juli und August und am Anfang September sehr hoch waren, im Zusammenhang steht, ebenso wie mit der ausgesprochenen Trockenheit dieser Periode.

Dem Bericht des Meteorologischen Zentralinstituts von Bukarest zufolge hatten wir im Bezirk der Steppe („Bărăgan") im Monat Juli 7 Tage mit der Temperatur von 35—37°, und zwar am 15. Juli + 35°, am 16. Juli + 35°, am 17. Juli + 37°, am 20. Juli + 36°, am 21. Juli + 36°, am 27. Juli + 36°, am 28. Juli + 35°, während die Gesamtmenge der Niederschläge für den ganzen Monat 5 mm betrug, die am 30. Juli gefallen waren. Im Monat August hatten wir für denselben Bezirk 7 Tage mit einer Temperatur zwischen 35—39°, und zwar: am 8. August + 36°, am 9. August + 36°, am 10. August + 36°, am 11. August + 38°, am 12. August + 38°, am 16. August + 35°, am 17. August + 39°. Nach diesem Datum und bis zu Ende des Monats August übersteigt die Temperatur nicht mehr 34° (am 22. August und am 27. August) und fällt am 29. August bis auf 18°. In der ganzen ersten Hälfte des August, als die Temperatur sich bis auf 38° und 39° erhob, gab es nicht einen mm Regen. Im Monat September stieg die Temperatur am 6. September auf 36°, am 7. September auf 38° an, in der zweiten Hälfte des September ist die Temperatur nicht mehr über 27° hinausgegangen. Dieselben Temperaturverhältnisse waren in diesem Jahre auch für andere Regionen des Donau-Tales gegeben, und zwar für Bukarest, Giurgiu, Buzău.

Die hohen Temperaturen des Monats Juli und besonders diejenigen zu Anfang des Monats August, die 5 Tage hintereinander anhielten (36° bis 38°) haben das Fortschreiten der Krankheit verhindert. Wir fanden zwar Sporen der *Nigrospora*, die von der *Sitotroga* übertragen und abgelegt waren, an der Basis der Maiskörner, aber die Entwicklung des Pilzes wurde einerseits durch die hohe Temperatur, andererseits durch die Austrocknung des Kolbenmarks hintangehalten. Die von uns beschriebenen Experimente, im Verein mit den auf den Feldern gemachten Beobachtungen betr. Auftreten, Entwicklung und Erlöschen der Krankheit, beweisen uns, daß in der Natur, auf den Feldern, die Krankheit durch hohe Temperaturen am Ende des Monats Juli, im August und Anfang September bis zum völligen Schwinden eingeschränkt werden kann.

Desgleichen verzögert ein Zurückgehen der Temperatur unter 10° sehr deutlich die Keimung der Sporen der *Nigrospora*, ohne sie jedoch abzutöten. Diese niedrige Temperatur, die oft am Ende des Monats September und am Anfang des Oktober eintritt, wenn der Mais noch nicht geerntet ist, verhindert auch während dieser Periode das Auftreten und das Fortschreiten der Krankheit.

Unsere experimentellen Ergebnisse stimmen also vollkommen mit den in der Natur gemachten Beobachtungen überein und bestätigen diese voll und ganz.

2. Einfluß der Konzentration der Nährlösungen in Wasserstoffionen auf die Entwicklung der *Nigrospora Oryzae.*

Um den Einfluß der Reaktion der Nährlösung auf die Entwicklung der *Nigrospora Oryzae* zu studieren, bedienten wir uns der Kulturen dieses Pilzes auf dem Maismehlextrakt nach dem Dodge-Verfahren, indem wir dieser Lösung verschiedene organische Säuren zusetzten (Zitronensäure, Apfelsäure, Weinsäure) oder indem wir sie durch NaOH oder KOH alkalisierten. Die Bestimmung des pH-Wertes der betreffenden Lösungen geschah nach vorangegangener Sterilisierung auf elektrometrischem Wege, und zwar vermittels des Trénel-Apparates mit Chinhydron-Elektroden und gleichzeitig auf kolorimetrischem Wege mit Hilfe des Hellige-Apparates. Die pH-Werte der von uns verwendeten Lösungen wechselten zwischen pH 2 und 10. Die Kulturen wurden entweder in feuchten Kammern von van Tieghem und Lemonnier oder in solchen von van Luijk angesetzt (Petri-Schalen mit durchbrochenem Deckel, wie wir sie schon am Anfang dieser Arbeit beschrieben haben). Alle Kulturen standen während der ganzen Dauer des Experimentes bei einer Temperatur von 27°. Zur Aussaat gelangten Sporen von kranken Maiskolben mit guter Keimfähigkeit.

Die Dodge-Lösung an sich kann verschiedene Reaktion zeigen, je nach dem Zustande der Maiskörner, aus denen das Mehl gewonnen wurde. Unsere Dodge-Lösung ohne Zusatz hatte eine Reaktion, die zwischen pH 6,4 und 7,45 schwankt.

a) Experimente mit der Dodge-Lösung unter Zusatz verschiedener organischer Säuren.

Der Dodge-Lösung wurden die oben bezeichneten organischen Säuren im Verhältnis von 0,01 %, 0,05 %, 0,1 %, 0,5 %, 1 % und 2 % zugesetzt. Die Kulturen wurden nach 6 Stunden, 9 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden, 3 Tagen und 5 Tagen beobachtet.

Über den Verlauf der Sporenkeimung ist folgendes zu berichten: 6 Stunden nach der Aussaat von *Nigrospora*-Sporen in die Dodge-Lösungen mit Säurezusatz ist noch keine Keimung zu beobachten, außer bei den Kulturen auf Dodge + Zitronensäure 0,05 %—0,5 %, zwischen pH 4,5—2,52. Die aus diesen Keimungen hervorkommenden Keimschläuche sind noch sehr kurz (1 bis $1^1/_2$ Mikrometerstrich).

Nach 9 Stunden sind die Keimung und das Wachstum des Myzeliums noch immer in den Lösungen mit Zitronensäure am besten. Bei 0,05 % (pH = 4,5) finden sich 13 % Keimungen, deren Keimschläuche bis zu 6 Mikrometerstrichen lang werden. Eine ziemlich reiche Keimung von 10 % findet man in der Lösung mit Weinsäure (0,05 %, pH = 4,8). Das Wachstum des Myzeliums überschreitet aber nicht 2 Mikrometerstriche. In allen anderen Lösungen, sogar in Dodge ohne Zusatz, sind die Keimung und das Wachstum schwächer. So sieht man schon 9 Stunden nach der Aus-

saat von *Nigrospora* in säurehaltige Lösungen, daß die Grenzkonzentration bei allen verwendeten Säuren 0,5 % (pH = 2,03—2,52) beträgt, und dieser Zustand bleibt während der ganzen Dauer des Experiments unverändert. Dagegen beobachtet man die reichste Keimung bei allen diesen Lösungen in der Konzentration von 0,05 % (pH = 4,4—4,8) und die beste Entwicklung finden wir in den Lösungen mit Zitronensäure-Zusatz.

Nach 24 Stunden kommt bei den Lösungen mit Zitronensäure in der Konzentration von 0,05 (pH = 4,5) der Prozentsatz der gekeimten Sporen auf 70 % und die Länge des Keimschlauches auf 50 Mikrometerstriche. Bei Apfelsäure in derselben Konzentration ist der Prozentsatz der Keimungen 65 %, während die Keimschläuche eine Länge von 50 Strichen erreichen; dann folgt Dodge ohne Zusatz (Keimungen = 32 %, Keimschläuche = 45 Striche). Die am wenigsten günstige Entwicklung vollzieht sich in der Weinsäure bei einer Konzentration von 0,01 % (pH = 5,3, Keimungen = 30 %, Keimschläuche = 32 Mikrometerstrich).

Nach zwei Tagen behauptet sich immer noch der verschiedene Einfluß aller Säuren, wenn auch die Keimung und das Wachstum des Myzeliums in allen Lösungen fortgeschritten ist. Die Zitronensäure ist am günstigsten für die Entwicklung der *Nigrospora* (immer in der Konzentration von 0,05 %), und die Weinsäure wird am wenigsten vertragen. Außerdem beginnen sich zu diesem Zeitpunkte neue Sporen in folgenden Lösungen zu entwickeln: Dodge ohne Zusatz (pH = 6,4, Dodge + Apfelsäure 0,05 % (pH = 4,4) und 0,1 % (pH = 3,6), Dodge + Zitronensäure 0,05 % (pH = 4,5) und 0,1 % (pH = 3,5). In der Lösung mit 0,1 % Zitronensäure ist die Entwicklung unseres Pilzes sehr intensiv, aber neben neuen, normal gebildeten Sporen bemerkt man darin auch zahlreiche anormale. Diese sind einesteils mehr oder weniger regelmäßige Anschwellungen, deren Membran nicht völlig schwarz wird, anderenteils sind es End- und Interkalarverdickungen in Form kurzer Dauerzellen mit stark verdickter und tiefbrauner Membran, die im allgemeinen viel kleiner als normale Sporen sind und nicht immer eine so regelmäßige Form haben.

Nach drei Tagen erscheinen die neuen Sporen auch in den Lösungen mit Weinsäure (Konzentration von 0,05 %, pH = 4,8). Die beste Entwicklung ist aber immer in der Zitronensäure festzustellen.

Nach fünf Tagen schreitet die Entwicklung überall fort, aber die angegebenen Unterschiede bleiben bestehen.

Also zeigt die *Nigrospora Oryzae* eine verschiedene Verträglichkeit für die verschiedenen organischen Säuren. Die für die Entwicklung beste Lösung ist die von Dodge + 0,05 % Zitronensäure (pH = 4,5), dann folgt die Lösung mit Apfelsäurezusatz, gleichfalls im Verhältnis von 0,05 % (pH = 4,4) und zuletzt die mit 0,05 %iger Weinsäure (pH = 4,8). Obwohl in der Dodge-Lösung mit Weinsäure die Keimung der Sporen bei der Konzentration von 0,01 % (pH = 5,3) verhältnismäßig größer ist, sehen wir

die Konzentration von 0,05 % für günstiger an, da die neuen Sporen sich darin schon nach drei Tagen bilden, während sie bei 0,01 % erst nach fünf Tagen erscheinen.

Wenn wir von der Natur der Säuren, die eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung unseres Pilzes spielt, einmal absehen wollen, können wir aus unseren Experimenten schließen, daß das Optimum der Keimung, des Wachstums und der Bildung neuer Sporen zwischen den pH-Werten 4,4—4,8 liegt.

In einer anderen Reihe von Experimenten haben wir gleichfalls den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration bestimmt, wobei wir von der synthetischen Nährlösung nach Wollenweber ausgingen (20 g Ammoniumnitrat, 10 g Dikaliumphosphat, 5 g Magnesiumsulphat, 100 g Traubenzucker und 1 l Wasser), deren pH-Wert 6,8 war und der wir dieselben Säuren im selben Verhältnis zusetzten. Wir stellten eine auffallende Übereinstimmung in den Ergebnissen der beiden Versuchsreihen fest.

Die größte Anzahl gekeimter Sporen, das stärkste Wachstum der Keimschläuche und die reichste Bildung neuer Sporen zeigten sich in der Wollenweberschen Lösung mit Zitronensäure-Zusatz bei pH = 4,6. Darauf folgt Wollenweber + Apfelsäure (pH = 4,4). Die Wollenwebersche Lösung unter Zusatz von Weinsäure brachte das Maximum der Entwicklung bei pH = 4,6, aber diese Entwicklung ist im allgemeinen viel schwächer als die in den vorgenannten Lösungen. Bei Wollenweberscher Lösung ohne Zusatz vollzieht sich die Entwicklung beinahe ebensogut wie in der Lösung mit Zitronensäure (pH = 4,6).

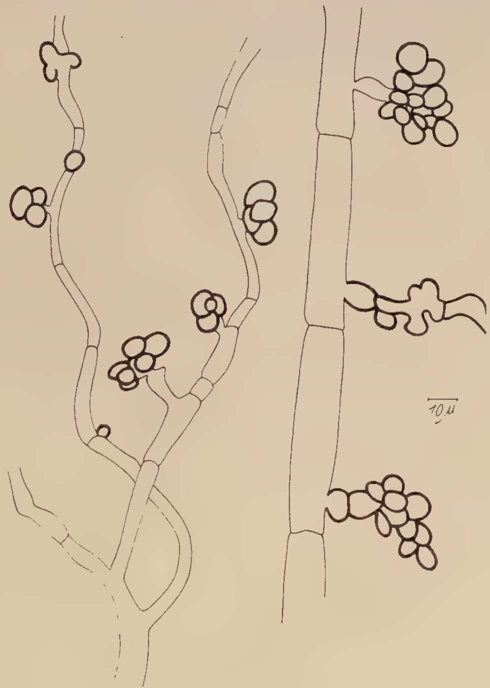


Abb. 5.
Unvollkommene Sporenbildung der *Nigrospora* unter dem Einfluß der Azidität. Wollenwebersche Lösung + Zitronensäure pH = 4,6.

Wenn wir die Ergebnisse der Kulturen von *Nigrospora* in Dodge-Lösungen mit Säurezusatz und in Wollenweber-Lösungen mit Säurezusatz miteinander vergleichen und ihre völlige Übereinstimmung feststellen, so können wir daraus schließen, daß es nicht so sehr die Natur der Nährelemente ist, welche die Verschiedenheit in der Entwicklung unseres Pilzes be-

stimmt, als vielmehr die Natur und die Konzentration der Säuren.

Als besondere Erscheinung bemerkten wir in der Wollenweberschen Lösung mit Zitronensäure-Zusatz (pH = 4,6) 9 Tage nach der Aussaat stellenweise auf den Myzeliumfäden kreisförmige Zellen, die in Traubenform angeordnet waren und Sporen glichen, die nicht zur vollen Entwicklung gelangen (Abb. 5). Zwischen den normalen Hyphen finden sich auch mehrere mit größerem Durchmesser und körnigerem Inhalt. Hier und da bemerkt man an diesen Hyphen Anschwellungen von unregelmäßiger Form mit reichem Inhalt, die das Aussehen eines Auswuchses infolge einer Verletzung haben (Abb. 6). In den mit Methylenblau gefärbten Präparaten speicherten diese Auswüchse den Farbstoff sehr intensiv auf. Durch die Färbung bemerkt man erst ihre sehr große Anzahl. Die Zelle, die sich unmittelbar unter der Anschwellung befindet, nimmt ebenfalls den Farbstoff ziemlich intensiv auf, während die übrigen Zellen sich gar nicht färben und gewöhnlich vakuolisiert werden. Mit Immersion bemerkt man im Inneren dieser Tumore verschieden gebildete und stark gefärbte Plasma-Inklusionen. Wahrscheinlich entstehen diese Tumore infolge der großen Konzentration der Nährlösung und können mit den anormalen Formen der Algen verglichen werden, die man in hochkonzentrierten Lösungen züchtet, oder vielleicht auch mit der Tuberkulisation der Orchideenwurzeln in konzentrierten Lösungen.

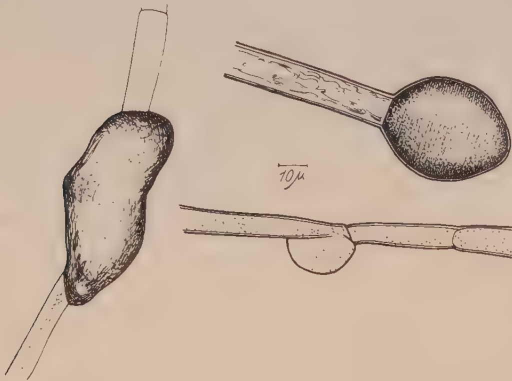


Abb. 6.
Geschwulstenbildung an den Hyphen der *Nigrospora* in Wollenweberscher Lösung + Zitronensäure, pH = 4,6.

b) Experimente mit der durch NaOH und KOH alkalisierten Dodge-Lösung.

Wir alkalisierten die Dodgesche Lösung durch normale Lösungen von NaOH und von KOH im Verhältnis von 0,05 %, 0,1 %, 0,5 %, 1 %, 2 %, $2^1/_2$ % und 3 %. Die Aussaaten und die Kulturen wurden unter denselben Bedingungen wie bei den vorhergehenden Experimenten gemacht.

Die folgende Besprechung enthält die Ergebnisse dieser Versuche:

Die Keimung der Sporen der *Nigrospora* und das Wachstum ihres Myzeliums sind in den alkalisierten Nährlösungen im allgemeinen geringer als in den Lösungen mit Säurezusatz. Dagegen geht die Verträglichkeit

für Alkali weiter als diejenige für Säuren und reicht bis zu pH = 10, wo wir noch 24 Stunden nach der Aussaat in mit NaOH alkalisierte Lösungen 8 % und nach 48 Stunden 12 % gekeimter Sporen vorfinden; bei den Lösungen mit KOH (pH = 9,81) haben nach 24 Stunden 36 % der Sporen gekeimt, und nach 3 Tagen steigt diese Zahl auf 92 %.

In Bezug auf die Keimung der Sporen und das Wachstum des Myzeliums ist der verschiedene Einfluß der Kationen Na und K zu konstatieren. Das Kation K übt einen günstigen und anregenden Einfluß auf die Entwicklung der *Nigrospora* aus und liefert einen viel größeren Prozentsatz von Keimungen als das Kation Na, sogar bei sehr hohen Konzentrationen. Der günstige Einfluß des Kations K erweist sich auch durch den Vergleich mit dem Dodgeschen Medium ohne Zusatz, in welchem der Prozentsatz der Keimungen geringer war als in den stark mit KOH alkalisierten Lösungen.

Im allgemeinen wird die Bildung neuer Sporen in alkalisierten Lösungen ein wenig zurückgehalten im Vergleich mit den säurehaltigen Lösungen. Bei den mit NaOH alkalisierten Lösungen zeigen sich die der Neubildung von Sporen vorangehenden Anschwellungen kaum nach 48 Stunden (bei pH = 7,45 und 7,68). Nach 3 Tagen bilden sich die neuen Sporen.

Nach 5 Tagen bilden sich noch immer neue Sporen in den Lösungen mit einem pH-Wert von 7,75 und 8, jedoch seltener. Jenseits dieser pH-Grenze tritt in den mit NaOH alkalisierten Lösungen keine neue Sporenbildung mehr auf. In den mit KOH alkalisierten Lösungen erscheinen die neuen Sporen in großer Anzahl und völlig entwickelt schon nach 48 Stunden (pH = 7,11 und bis zu pH = 9,73, aber nach pH = 8,40 verringert sich die Anzahl der völlig entwickelten neuen Sporen progressiv). Bei pH = 9,81 erscheinen normale neue Sporen erst nach 3 Tagen.

Interessant und hervorzuheben ist, daß jenseits von pH = 8,4 in den durch KOH alkalisierten Lösungen sich nach 48 Stunden End- und Interkalarverdickungen zeigen, die denjenigen gleichen, die wir in den mit Zitronensäure versetzten Lösungen beobachtet und beschrieben haben.

Der günstige Einfluß des Kations K im Vergleich mit dem von Na ist also auch aus der Bildung der neuen Sporen zu ersehen. Abgesehen von der begünstigenden Einwirkung des Kations K kann man nach unseren Erfahrungen mit NaOH sagen, daß die Grenze für die Bildung neuer Sporen bei pH = 8 liegt. Über diese Grenze hinaus keimen die Sporen, treiben Keimschläuche, die sich nicht sehr vergrößern, sich wenig verzweigen und nicht mehr zu neuer Sporenbildung gelangen.

Wie wir es bei den Lösungen mit Säurezusatz taten, wiederholten wir unsere Experimente über den Einfluß der Alkalisierung, indem wir das Dodgesche Medium durch das Wollenwebersche Medium ersetzten, unter Zusatz von NaOH im selben Verhältnis. Die Ergebnisse, die uns

diese Reihe von Experimenten brachte, stimmen vollkommen mit denen der vorhergehenden überein. Die Entwicklung des Pilzes vollzieht sich langsamer als in den säurehaltigen Lösungen und erreicht ihr Optimum zwischen pH = 7,2 und 7,9; oberhalb dieser Grenze geht die Entwicklung immer langsamer vor sich, wie in den mit NaOH alkalisierten Dodge-Medien. Auch bei den alkalihaltigen Wollenweberschen Medien bemerkt man die Bildung unvollkommener Sporen, die sogar nach 11 Tagen noch nicht zur Verdichtung und Schwarzfärbung ihrer Membran in der typischen Form gelangen können. Im allgemeinen hat sich bei allen unseren Experimenten das Wollenwebersche Medium ein wenig ungünstiger für die Entwicklung der *Nigrospora* gezeigt als die Dodgesche Nährlösung.

Zusammenfassung.

1. Die Sporen der *Nigrospora Oryzae* (B. und Br.) Petch verlieren nach zwei Jahren vollständig ihre Keimfähigkeit. Die ein Jahr alten Sporen verlieren ihre Keimfähigkeit, wenn sie an der Oberfläche gelegen haben und behalten zum Teil ihre Keimfähigkeit, wenn sie sich in Inneren des Maiskolbens befanden.

2. Die Minimaltemperatur für die Keimung der Sporen der *Nigrospora* liegt wenig unter 10 °, das Optimum der Keimung liegt bei 30 ° und manifestiert sich bereits fünf Stunden nach der Aussaat, das Maximum liegt bei 47 °.

3. Das normale Wachstum des Myzeliums der *Nigrospora* vollzieht sich zwischen 10 und 30 °. Die optimale Temperatur beträgt 30 °. Das Wachstum des Myzeliums hört auf bei 41 ° nach 24 Stunden, bei 35 ° nach 60 Stunden.

4. Die Bildung neuer Sporen erfolgt zwischen 25 bis 30 °, nach 40 Stunden bzw. bei längerer Dauer des Experimentes auch bei niedrigeren Temperaturen. Nach sieben Tagen entwickeln sich die neuen Sporen in geringer Zahl sogar schon bei 10 °.

5. Feuchte Wärme von 49 $^1/_2$ ° ist für die Sporen der *Nigrospora* nach vier Tagen tödlich, solche von 51 ° nach 6 Stunden, die von 53 ° nach einer Stunde, die von 58 ° nach 6 Minuten, die von 67 ° nach 4 Minuten der Einwirkung. Diejenigen Kulturen, die der Temperatur zwischen 49 $^1/_2$ und 67 ° eine kürzere Zeit hindurch ausgesetzt wurden als die tödliche Grenze beträgt, wurden zur Bildung anormaler Sporen angeregt.

6. Wenn die Sporen der *Nigrospora* bis zu 12 Stunden der trockenen Temperatur von 67 ° ausgesetzt werden, behalten sie noch ihre Keimfähigkeit, aber der Prozentsatz der Keimungen und die Kraft zur Bildung neuer normaler Sporen nehmen allmählich mit der Dauer des Experimentes ab.

Werden die Sporen zwölf Stunden lang in trockenem Zustand einer Temperatur von 67 ° ausgesetzt, so wird die Keimfähigkeit sehr stark

herabgesetzt; die aus den Sporen hervorkommenden Keimschläuche verzweigen sich zwar, weisen aber interkalar und am Endpunkt anormale, sporenähnliche Gebilde neben normalen Sporen auf. Diese Fähigkeit, unter der Einwirkung hoher Temperaturen an der Grenze der Widerstandskraft Anomalien zu bilden, bestätigt die Resultate der von Barnes gemachten Experimente.

7. Die Temperatur von 67° wirkt tödlich für die Sporen der *Nigrospora*, wenn sie ihr 16 Stunden hindurch in trockenem Zustande ausgesetzt waren.

8. Die Experimente im Laboratorium und die auf den Feldern gemachten Beobachtungen beweisen, daß die von den Sporen der *Nigrospora* hervorgerufene Maiskrankheit durch die Einwirkung hoher Temperaturen im Verein mit Trockenheit in der zweiten Hälfte des Juli, im August und Anfang September bis zum völligen Erlöschen gebracht werden kann.

9. Die Toleranzgrenze für Säuren entspricht bei allen angewendeten Säuren (Zitronensäure, Apfelsäure, Weinsäure) der Konzentration von 0,5 (pH = 2,03—2,52). Die reichlichste Keimung entsteht in Nährlösungen mit einer Säurekonzentration von 0,05 (pH = 4,4—4,8). Die üppigste Entwicklung vollzieht sich bei dieser Konzentration in der Dodgeschen Lösung + Zitronensäure, die schwächste Entwicklung in der gleichen Nährlösung + Weinsäure [1]).

10. Die Bildung neuer Sporen wird auch von der Natur und Konzentration der Säuren beeinflußt: die beste Entwicklung gewährleistet immer Dodgesche Nährlösung + 0,05 % Zitronensäure. In dem Dodgeschen Medium + 0,1 % Zitronensäure (pH = 3,5) sieht man die Bildung anormaler Sporen, sowie die End- und Interkalar-Verdickungen neben normal gebildeten Sporen.

11. In der synthetischen Nährlösung Wollenwebers unter Zusatz derselben organischen Säuren im gleichen Verhältnis, entwickelt sich die *Nigrospora* in vollkommen übereinstimmender Weise; das Optimum der Entwicklung liegt im Wollenweberschen Nährmedium + Zitronensäure bei pH = 4,6, die schwächste Entwicklung in der gleichen Nährlösung + Weinsäure. In Wollenwebers Medium + Zitronensäure bei pH = 4,6 bemerkt man unvollkommene Sporenbildung und Geschwulsten an den Hyphen (Abb. 5 und 6). Die Verschiedenheit der Entwicklung von *Nigrospora* in verschiedenen Nährlösungen mit Säuregehalt beweist uns, daß nicht die Natur der Nährelemente die Verschiedenheiten in der Entwicklung der

[1]) In einer kleinen Abhandlung („Basisporium dry rot of dent Korn as related to temperature and cob reaction", Phytopathology, 21. Januar, S. 129—130, 1931) hat Reddy mit einem *Basisporium* gearbeitet (die Gattung und die Synonyme sind nicht angegeben) und benutzte als Nährlösungen Wasserextrakte von Maiskolben; er erzielte annähernd dieselben Resultate, nur daß die Toleranzgrenze bei seinem Pilz bei pH = 4,4—4,7 und das Optimum bei pH = 5,9—6,3 lag.

Nigrospora bewirkt, sondern vielmehr die Natur und die Konzentration der Säuren.

12. Die Keimung der Sporen und das Wachstum des Myzeliums sind im allgemeinen in den alkalischen Nährlösungen schwächer als in den säurehaltigen Nährlösungen, obgleich die Toleranz für Alkali bis pH = 10 geht.

13. Die Kationen Na und K üben einen verschiedenartigen Einfluß auf die Keimung der Sporen und das Wachstum des Myzeliums der *Nigrospora* aus, und zwar hat das Kation K einen günstigen und anregenden Einfluß auf die Entwicklung dieses Pilzes und liefert einen viel höheren Prozentsatz von Keimungen als das Kation Na, sogar bei hoher Konzentration.

14. Die Bildung neuer Sporen in alkalischen Nährlösungen verzögert sich gewöhnlich im Vergleich mit den säurehaltigen Lösungen. In den durch NaOH alkalisierten Lösungen gibt es, falls pH über den Wert von 8 hinausgeht, keine Neubildung von Sporen. In den mit KOH alkalisierten Lösungen bilden sich sogar noch bei pH = 9,81 neue Sporen, aber erst nach drei Tagen. Auch hier kann man die günstige Einwirkung des Kations K feststellen.

15. In dem durch NaOH alkalisierten synthetischen Medium Wollenwebers geschieht die Entwicklung in völliger Übereinstimmung mit dem im selben Verhältnis alkalisierten Dodgeschen Medium.

16. In den durch KOH alkalisierten Lösungen mit pH über 8,4 bemerkt man 48 Stunden nach der Aussaat End- und Interkalarverdickungen gleich denen, die wir in den Nährlösungen mit Zitronensäurezusatz (pH = 3,5) beobachtet haben.

Die Eigentümlichkeit der *Nigrospora*, an der Toleranzgrenze für Säuren, Alkali und hohe Temperaturen anormale Sporen und Dauerzustände zu bilden, ist hervorzuheben.

Aus dem Institut für landwirtschaftliche Botanik Braunschweig-Gliesmarode.
Leiter: Professor Dr. G. Gaßner.
(Arbeitsgemeinschaft Biologische Reichsanstalt — Botanisches Institut Braunschweig.)

Zur Bewertung der Saugkraft als Merkmal von Braunrostbiotypen.

Von
K. Hassebrauk.

1. Einleitung und Methodik.

In Band II dieser Zeitschrift erschien eine Mitteilung von H. E. Steiner[1]) über: „Die Saugkraft, ein Merkmal zur Charakterisierung der Braunrostbiotypen". Steiner sucht durch Keimversuche mit Uredosporen auf Rohrzuckerlösungen steigender Konzentration die Saugkraftwerte von einigen Braunrostformen zu ermitteln und damit ein neues Verfahren zur Charakterisierung von Biotypen zu finden.

Steiner arbeitete mit den Formen XI, XIII und XIV von *Puccinia triticina* Erikss. Um eine Nachprüfung der von Steiner erzielten Resultate zu ermöglichen, wurden zu den im folgenden dargelegten Keimversuchen die gleichen Braunroststämme verwendet. In Übereinstimmung mit der Versuchsanordnung von Steiner dienten als Keimmedium Wasser bzw. Rohrzuckerlösungen von 0,3 bis 0,6 mol mit Abstufungen von 0,05 mol. Die Durchführung der Versuche erfolgte wie bei Steiner im hängenden Tropfen, in einigen Versuchen aber auch in Kulturschalen von 50 mm Durchmesser. Unterschiede in den Keimergebnissen wurden dabei nicht beobachtet. Die Objektträger bzw. Kulturschalen standen bei Temperaturen von 20—22° C in diffusem Licht. Steiner arbeitete mit den gleichen Temperaturen bei Dunkelheit. Nach den Angaben von Stock[2]) sind aber die Lichtverhältnisse für den Keimverlauf von Uredosporen der Form XIV des Braunrostes ohne Bedeutung. Für die Formen XI und XIII wurden diese Angaben in Vorversuchen nachgeprüft und bestätigt. Die Ablesung der Keimergebnisse wurde nach 24 Stunden vorgenommen. Erfahrungsgemäß (Steiner, Stock) ist nach dieser Zeit das Keimungsmaximum

[1]) Steiner, H. E.: Die Saugkraft, ein Merkmal zur Charakterisierung der Braunrostbiotypen. Phytopath. Ztschr., **2**, 1930, 199.

[2]) Stock, F.: Untersuchungen über Keimung und Keimschlauchwachstum der Uredosporen einiger Getreideroste. Ebenda, **3**, 1931, 231.

stets erreicht. In jedem Versuch kamen im allgemeinen 600—800 Sporen zur Auszählung.

Während somit hinsichtlich der Versuchsmethodik zwischen Steiner und den hiesigen Versuchen weitestgehende Übereinstimmung besteht, liegen bezüglich der Beschaffenheit des Untersuchungsmaterials trotz Verwendung der gleichen Roststämme grundlegende Unterschiede vor. Steiner arbeitete mit Uredosporen, die ihm von anderer Seite zugesandt waren und die ohne Weitervermehrung bis zum Versuchsbeginn bei 9—12° trocken aufbewahrt wurden. Über Alter und Abstammung des Materials ist im einzelnen nichts ausgesagt. Demgegenüber kamen zu den hiesigen Versuchen stets nur frische Uredosporen zur Verwendung. Zu diesem Zwecke wurden alle drei Roststämme streng isoliert, aber unter gleichen Bedingungen fortlaufend auf der Weizensorte Michigan Bronce vermehrt, die gegen alle drei Roststämme hohe Anfälligkeit aufweist. Jede Keimprüfung wurde ferner gleichzeitig mit gleichaltrigem Sporenmaterial aller drei Roststämme vorgenommen, um nach Möglichkeit Unterschiede in der Beschaffenheit des Untersuchungsmaterials auszugleichen.

2. Versuchsergebnisse.

Tabelle 1.

Keimversuche mit Uredosporen von *Puccinia triticina*, Form XI.

Keimversuch vom	Keimprozente auf							
	H_2O	Saccharoselösung (in mol)						
		0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,6
2. November 1931	91,0	85,0	87,5	72,3	63,0	30,7	18,7	20,5
10. November 1931	86,0	91,0	95,0	73,6	47,0	32,0	19,4	21,0
21. November 1931	87,0	89,1	90,0	72,0	53,0	24,0	14,0	12,0
2. Februar 1932	89,5	44,0	42,4	37,0	43,0	30,0	16,9	5,0
9. Februar 1932	82,0	77,5	30,0	25,7	35,2	39,7	15,3	15,5
23. Februar 1932	49,0	37,5	36,3	32,2	19,6	15,9	4,4	Einz.
5. März 1932	30,0	46,0	25,5	10,0	12,0	5,0	Einzeln	Einz.
Im Durchschnitt	73,5	67,1	58,1	46,1	39,0	25,3	12,8	10,7

Tabelle 2.

Keimversuche mit Uredosporen von *Puccinia triticina*, Form XIII.

Keimversuch vom	Keimprozente auf							
	H_2O	Saccharoselösung (in mol)						
		0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,6
2. November 1931	83,0	42,2	64,0	25,4	32,3	37,7	29,5	2,6
10. November 1931	65,0	51,0	58,0	36,8	39,3	49,0	25,0	2,5
21. November 1931	67,0	76,0	30,5	14,6	24,2	7,0	1,3	2,0
2. Februar 1932	59,0	79,5	40,0	27,5	29,9	6,9	1,4	5,7
9. Februar 1932	82,0	19,5	31,0	30,5	22,0	2,0	6,0	4,5
23. Februar 1932	54,0	16,7	7,4	9,7	Einz.	Einz.	Einz.	Einz.
5. März 1932	64,0	61,0	28,0	31,6	24,0	17,2	24,3	7,8
Im Durchschnitt	67,7	49,4	37,0	25,2	24,6	17,2	12,6	3,7

Tabelle 3.
Keimversuche mit Uredosporen von *Puccinia triticina,* Form XIV.

Keimversuch vom	H_2O	Keimprozente auf Saccharoselösung (in mol) 0,3	0,35	0,4	0,45	0,5	0,55	0,6
2. November 1931	80,9	72,1	69,6	77,0	57,0	30,2	39,0	18,0
10. November 1931	81,5	78,0	60,0	27,6	45,5	26,6	41,8	4,0
21. November 1931	75,4	56,9	62,0	36,4	47,5	46,1	26,4	8,1
2. Februar 1932	88,0	74,0	68,0	60,5	56,0	41,0	27,0	8,0
9. Februar 1932	95,0	63,5	14,5	20,8	30,2	20,0	16,0	11,0
23. Februar 1932	34,0	9,3	12,3	6,0	12,8	12,0	6,0	2,8
5. März 1932	39,0	65,0	31,7	31,0	18,6	16,0	12,0	1,2
Im Durchschnitt	70,5	59,8	45,4	37,0	38,2	27,4	24,0	7,6

Die Wiedergabe der vorstehenden Tabellen erfolgt vor allem, um zu zeigen, welch starke Schwankungen in derartigen vergleichenden Keimversuchen aufzutreten pflegen. Der mittlere Fehler ist so hoch, daß die Verwendung der Ergebnisse zu Vergleichszwecken von vornherein unzulässig erscheinen muß. Die am Schlusse der vorstehenden Tabellen angegebenen Durchschnittswerte müssen daher ebenfalls nur mit großer Zurückhaltung beurteilt werden.

Auf Einzelheiten der in den Tabellen enthaltenen Keimungsergebnisse braucht hier nicht weiter eingegangen zu werden, da es in erster Linie auf den Nachweis ankommt, daß die einzelnen Versuchsreihen unter sich sehr starke Schwankungen aufweisen, und daß die gefundenen Werte sich ganz wesentlich von den Ergebnissen Steiners unterscheiden. Im Zusammenhang hiermit sei noch erwähnt, daß auf Grund einiger weiterer, hier nicht mitgeteilter Versuchsreihen auch die von Steiner angegebenen maximalen Konzentrationen von 0,55 bzw. 0,6 mol nicht bestätigt werden konnten. Die Grenze lag mehrfach bei 0,65 mol; nach Stock kann es sogar noch auf 1-molarer Glukoselösung zu vereinzelten Keimungen kommen.

Aus den auf Rohrzuckerlösungen beobachteten Keimprozenten hat Steiner die Werte für „Saugkraftmaximum", „obere Grenze der Saugkraft" und der daraus resultierenden „Variationsbreite" berechnet. Bezüglich der Definition dieser in Anlehnung an die Zederbauerschen Untersuchungen übernommenen Begriffe sei auf die entsprechenden Ausführungen von Steiner verwiesen. Die allgemeine Frage, ob die Aufstellung dieser Begriffe und ihre Übertragung auf Rostsporen innerlich gerechtfertigt ist, soll hier ganz außer acht gelassen werden.

Um einen Vergleich mit den Ergebnissen von Steiner zu ermöglichen, sind in der Tabelle 4 die aus den Ergebnissen der Tabellen 1 bis 3 hervorgehenden Werte für „Saugkraftmaximum", „obere Grenze der Saugkraft" und „Variationsbreite" den von Steiner angegebenen Werten gegenübergestellt.

Tabelle 4.
Vergleich der Ergebnisse von Steiner mit den eigenen Beobachtungen.

Form		Nach Steiner	Eigene Beobachtungen
XI	Saugkraftmaximum	11,112 Atm.	Etwa 13,0 Atm.
	Obere Grenze der Saugkraft	17,772 „	„ 19,6 „
	Variationsbreite	6,660 „	„ 6,6 „
XIII	Saugkraftmaximum	12,685 Atm.	Etwa 10,0 „
	Obere Grenze der Saugkraft	17,772 „	„ 19,6 „
	Variationsbreite	5,087 „	„ 9,6 „
XIV	Saugkraftmaximum	8,129 Atm.	Etwa 13,0 Atm.
	Obere Grenze der Saugkraft	15,993 „	„ 19,6 „
	Variationsbreite	7,864 „	„ 6,6 „

Die Zusammenstellung zeigt, daß weder in den absoluten Werten noch in dem relativen Verhalten der drei Biotypen untereinander eine Übereinstimmung zu den von Steiner erhaltenen Versuchsergebnissen vorliegt.

3. Schlußbemerkungen.

Die Betrachtung der in den Tabellen 1 bis 4 dargelegten Ergebnisse spricht gegen die Möglichkeit, durch Keimversuche auf verschieden starken Zuckerlösungen Rostformen zu diagnostizieren. Stets machen sich starke Schwankungen im Keimverhalten bemerkbar. Auch durch sorgfältige gleichmäßige Anzucht des Untersuchungsmaterials, durch die Wahl der gleichen Weizensorte zu Vermehrungszwecken und durch die stets gleichzeitige Durchführung der Keimprüfungen können diese Schwankungen nicht vermieden werden. Reife, Anzuchtverhältnisse und andere schwer kontrollierbare Momente (vgl. Schaffnit[1]) üben offenbar auf das Keimverhalten von Uredosporen einen maßgebenden Einfluß aus. Aus Versuchen, deren Ergebnisse trotz aller Vorsichtsmaßnahmen unter Umständen um ein mehrfaches der beobachteten Einzelwerte schwanken, können natürlich keine einwandfreien Rückschlüsse gezogen werden.

Die soeben gegen die vorstehenden eigenen Befunde geäußerten Bedenken gelten in verstärktem Maße auch für die Ergebnisse von Steiner. Zwar treten die Schwankungen der Einzelversuche deshalb hier nicht in vollem Umfange hervor, weil sie infolge der angewandten Durchschnittsberechnung schon weitgehend ausgeglichen sind. Um so schwerwiegender müssen die noch vorhandenen Ungleichheiten bewertet werden. Im übrigen ist bereits in der Einleitung dieser Arbeit darauf hingewiesen, daß Steiner kein frisches und unter gleichmäßigen Bedingungen herangezogenes Sporenmaterial verwendet hat. Vielmehr sind die Versuche mit einem Material

[1]) Schaffnit, E., Biologische Beobachtungen über die Keimfähigkeit und Keimung der Uredo- und Äzidiosporen der Getreideroste. Ann. Mycol., 7 1909, 509.

durchgeführt, das dem Autor von anderer Seite zugesandt war und das dann ohne Weitervermehrung bis zum Versuchsbeginn trocken aufbewahrt wurde. Die Verwendung derartigen Sporenmaterials erklärt die überaus geringe Keimfähigkeit der Sporen, die 16 %, 18 % und bestenfalls 30 % betrug gegenüber durchschnittlich 70 % in den obigen Versuchen. Zweifelsohne hat dies weit unter der Norm liegende Keimvermögen auch die relativen Unterschiede im Keimverhalten ungünstig beeinflußt. Es kann daher durchaus nicht überraschen, wenn die von Steiner gefundenen Werte absolut und relativ von den obigen verschieden sind.

Zusammenfassend ist also festgestellt, daß durch Sporenkeimversuche auf Zuckerlösungen steigender Konzentration zwischen den einzelnen Rostformen keine gesicherten Unterschiede ermittelt werden können, die Rückschlüsse auf physiologische Eigenschaften der untersuchten Biotypen gestatten. Die von Steiner gefundenen Werte sind ebenso wie die hier mitgeteilten Befunde Zufallsergebnisse, die nicht verallgemeinert werden dürfen.

Aus seinen Ergebnissen hat Steiner recht weitgehende Schlußfolgerungen auf die geographische Verbreitung der einzelnen Biotypen gezogen. Er vermutet zwischen den Niederschlagsmengen der Herkunftsorte und den Saugkraftwerten der einzelnen Rostformen bestimmte Beziehungen. Abgesehen davon, daß wir über die Verbreitung der Biotypen heute überhaupt noch nicht genügend unterrichtet sind, daß ferner gegen die von Steiner durchgeführte Auswertung der von ihm gegebenen klimatologischen Daten Bedenken erhoben werden müssen, fallen die gesamten Schlußfolgerungen mit der obigen Feststellung, daß die von Steiner für die untersuchten Biotypen angegebenen Saugkraftwerte experimentell nicht gesichert sind.

Aus dem Institut für angewandte Botanik der Universität Hamburg.

Rauchschäden durch schwefligsaure Abgase und ihre Erkennung.

Von

G. Bredemann und H. Radeloff.

Unter den pflanzenschädlichen Abgasen steht die schweflige Säure an erster Stelle, sowohl hinsichtlich der Intensität ihrer giftigen Wirkung, in der sie wohl nur von der Flußsäure erreicht wird, als vor allem auch wegen der Häufigkeit ihres Vorkommens. Wenn auch mannigfache industrielle Vorkehrungen zur Verminderung der Rauchschäden getroffen worden sind, ist es bisher doch nicht immer gelungen, die Abgase völlig zu reinigen, und Rauchbeschädigungen durch SO_2 sind nicht selten.

Die Art der Einwirkung der schwefligen Säure ist je nach Konzentration recht verschieden. Bei plötzlich-heftigen, „akuten" Rauchstößen können die betroffenen Pflanzen in kurzer Zeit völlig abgetötet oder doch alle ihre Blattorgane vernichtet werden. Bei den nach schwächerer und längerer SO_2-Einwirkung entstehenden „chronischen" Rauchschäden werden die verschiedenen Lebensfunktionen der Pflanzen gestört und zunächst vereinzelte Flecke auf den Blättern hervorgerufen. Weiter können aber auch die noch grün erscheinenden Blatteile schon geschädigt sein, und die sog. „unsichtbaren Rauchschäden" sind nicht zu leugnen. Wir haben wiederholt festgestellt, daß in noch grünen Blättern aus weiterem Umkreis der Rauchquelle die Chloroplasten bereits ihren natürlichen Glanz verloren hatten, teilweise verquollen oder auch schon mit dem Plasma zu einer einheitlichen grünen Masse zerflossen waren. In solchen Fällen wird das Chlorophyll nicht mehr seine normale Funktion ausüben. Die SO_2 greift immer in erster Linie chlorophyllführende Pflanzenteile an; Wurzeln, Blütenblätter und etiolierte oder panaschierte Blatteile sind relativ unempfindlich oder bleiben ganz verschont (Literatur s. Bredemann 1932).

Die Assimilationstätigkeit der Pflanzen wird auch auf jeden Fall immer zuerst und hauptsächlich gestört. Verdunkelte, nicht assimilierende Blätter werden nur durch starke Konzentration geschädigt. Über die Art, in der die SO_2 in den Assimilationsprozeß eingreift, sind verschiedene Ansichten geäußert. Nach Kurt Noack (1929, 64—98) bindet die SO_2 das bei der Assimilation katalytisch mitwirkende Eisen des Chloroplasten ab. Das weiter belichtete, aber nicht mehr assimilierende Chlorophyll wirke dann photooxydativ auf die organischen Zellinhaltsstoffe ein,

die dadurch zerstört werden und sich verfärben. Die Abbindung des ursprünglich organisch gebundenen Eisens konnte Kurt Noack durch die Zunahme des Anteils wasserlöslichen Eisens am Gesamteisen feststellen. In normalen Maisblättern betrug der Anteil 6,9 %, bei den mit Natriumbisulfit behandelten Proben 27,8 %. Wir untersuchten eingesandte SO_2-beschädigte Blätter von *Syringa vulgaris* im Vergleich mit gesunden und unberäucherten, aber herbstlich braunverfärbten und erhielten für:

Syringa vulgaris-Blätter	Gesamt-Fe_2O_3 %	Wasser-lösliches Fe_2O_3 %	Wasser-lösliches Fe_2O_3 in Prozent des Gesamt-Fe_2O_3
Gesund	0,111	0,013	11,7
Gesund, teils herbstbraun	0,408	0,068	16,7
Rauchbeschädigt . .	0,193	0,053	27,5

Die drei Proben stammten von verschiedenem Standort und unterschieden sich daher wesentlich im Gesamteisengehalt. Obwohl jedoch die SO_2-geschädigten Pflanzen im Gesamtgehalt zwischen den beiden Kontrollproben standen, übertrafen sie diese doch im Anteil des wasserlöslichen Eisens am Gesamteisen bei weitem. Grießmeyer (1930, 338) stellte auch histochemisch mittels Hämatoxylins fest, daß in den Chloroplasten rauchbeschädigter Blätter übernormal viel wasserlösliches Eisen vorhanden sei, und nach Wehner (1928, 558 und 581) läßt sich das Fortschreiten der Vergiftung teilweise aufhalten, wenn man den Blättern Eisensalze, am besten in Form einer 0,02 %igen Ferroammonzitratlösung, darbot. Diagnostisch dürfte sich die Zunahme wasserlöslichen Eisens für einen Nachweis von SO_2-Beschädigung als solcher jedoch kaum verwerten lassen, da sie auch durch andere Rauchsäuren bedingt wird. Überhaupt sind noch einige Momente zu klären, die in der Theorie Kurt Noacks nicht ohne weiteres ihre Erklärung finden, u. a. die gegenüber anderen Rauchsäuren hohe Giftigkeit der SO_2 und die Unempfindlichkeit des Chlorophylls der Immergrünen im Winter (vgl. Bredemann, 1932).

Dörries (1932, 257) stellte bei akuten Schäden fest, daß die SO_2 das Chlorophyll auch direkt angreift. Die grünen Bestandteile des Chlorophylls werden durch Abspaltung des Magnesiums in Phäophytin umgewandelt. Hierauf haben Dörries und Röben und Dörries (1932, 56) eine Methode zum Nachweis von Rauchschäden gegründet. Sie wiesen mit Hilfe eines besonderen Laubblatt-Spektroskopes in den beschädigten Blattstellen das Phäophytin spektroskopisch nach; bei der Zersetzung des Chlorophylls infolge Vertrocknung, sogenannter Frosttrocknis, nach Spätfrösten, beginnender Herbstverfärbung und Parasitenbefalls bildete sich Phäophytin nicht. Wenn auch wohl nicht bei allen, besonders nicht bei den chronischen SO_2-Schäden Phäophytin entstehen wird, so erscheint

sein Nachweis doch für die Erkennung von Rauchschäden geeignet. Allerdings deutet er nicht spezifisch auf den Einfluß von SO_2 hin, sondern allgemein auf den saurer Rauchgase, von denen die übrigen gelegentlich von lokaler Bedeutung werden können.

Die Verfärbung der Blätter ist die augenfälligste Veränderung nach einer SO_2-Einwirkung. Und wenn Art, Form und Farbe der Blattflecke auch durchaus keine untrüglichen diagnostischen Merkmale für SO_2-Schäden sind, weil sie in ähnlicher Weise auch durch andere Rauchgase oder gar durch andere Ursachen (Frost, Sonnenbrand usw.) hervorgerufen werden können, so bieten sie doch oft mancherlei Charakteristisches, das Hand in Hand mit den sonstigen Befunden geeignet sein kann, die Diagnose zu stützen. Überhaupt gibt es ja für alle Rauchschäden kein einziges allein beweisendes Merkmal, sondern nur die Gesamtheit dieser läßt einen sicheren Schluß zu. Nach genannter Theorie Kurt Noacks, nach welcher die Flecke postmortal entstehen und nur indirekt auf dem Wege über das Chlorophyll erzeugt werden, würde es ohne weiteres verständlich sein, daß die verschiedenen Rauchsäuren keine eindeutig charakteristischen Flecke hervorrufen, sondern sich untereinander ähneln und auch den aus anderen Ursachen entstandenen ebenfalls postmortalen Erscheinungen. Nur wenn ein Rauchgas besondere Ausfällungen in der Zelle bewirkt, wie z. B. Gerbstoffausfällungen durch Ammoniakgase und ähnlich auch durch Teer, werden solche Rauchgase typische Färbung, in diesem Falle dunkle, bewirken.

An den meisten Blättern der Dikotylen ruft die SO_2 scharf begrenzte Flecke von vorwiegend gelbbrauner bis rotbrauner Farbe hervor. Die Flecke entstehen vereinzelt in den Interkostalfeldern und vereinigen sich bei fortschreitender Zerstörung zu breiten verfärbten Flächen, die bis nahe an die Seiten- und den Mittelnerven heranreichen können, im Gegensatz zu HCl-Schäden, bei denen durchweg der Blattrand betroffen wird, und zu parasitären Schäden, bei denen die Flecke nicht so ausgesprochen interkostal aufzutreten brauchen. In Ausnahmefällen, so an einer durch SO_2 beschädigten Birke, fanden wir auch nur den Blattrand in schmalem Streifen ringsherum verfärbt und an stark gefiederten Blättern, z. B. an Möhren- und Petersilienkraut, werden meistens nur die äußersten Blattzipfel betroffen. Bei den Monokotylen dagegen, so beim Getreide, verfärbt sich zunächst die Blattspitze und von dort aus die Blattspreite in schmalen Streifen zwischen den parallelen Nerven. Oft sind die Flecke von einem dunklen Rand umgeben, der außen wieder von einem hellbraunen oder farblosen Ring umfaßt wird. Ebenso umrandete Flecke traten nach Zschokke (1931, 207) jedoch auch an Weinblättern auf, die unter Sonnenbrand litten, so daß also die doppelte Umrandung nicht charakteristisch ist. Auch tritt sie nicht immer auf, sondern nur bei nicht zu plötzlicher und intensiver Einwirkung; das gleiche stellte übrigens Zschokke an den

verbrannten Weinblättern ebenfalls fest. — Die sehr empfindlichen Nadeln der Koniferen verfärbten sich vorwiegend fuchsrot. Zuerst wird die Spitze der Nadeln betroffen, und oft finden sich Nadeln, deren obere Hälfte scharf abgesetzt beschädigt ist, während der untere grüne Nadelteil weiter assimiliert. Am ehesten treten noch bei der Fichte vereinzelte rote Flecke auch gleich in der unteren Nadelhälfte auf, die sich in der Regel aber bald verbreitern und vereinen, so daß die ganze Nadel sich rötet und abstirbt. Aber auch diese Nadelverfärbung ist nicht für SO_2-Einwirkung typisch. In ähnlicher Weise kann sie durch andere Säureschäden bewirkt werden, und auch Spätfröste können junge Nadeln leuchtendrot verfärben.

Zum Fangpflanzenbau sind wiederholt einige Pflanzenarten vorgeschlagen, die teils durch hohe Empfindlichkeit, teils durch auffällige Verfärbungen geeignet erscheinen, schädliche Rauchschwaden anzuzeigen. Sorauer (Sorauer und Ramann 1899, 216) empfiehlt die sehr empfindliche Buschbohne; doch ist ihr scheckigbuntes Schadensbild nicht besonders charakteristisch. Typischer sind die sich leuchtendrot verfärbenden Blätter von Polygonumarten, insbesondere *Polygonum Sieboldi* (Haselhoff und Lindau 1903, 77); ähnlich fanden wir auffallend rote, interkostale Streifen auf *Polygonum cuspidatum*-Blättern. Die violetten oder braunen Flecke auf Rosenblättern, die Stoklasa (1923, 29) für kennzeichnend hält, können auch durch viele andere Ursachen hervorgerufen werden. Nach Ost und Wehmer (1899, 236) sollen auf SO_2-beschädigten Rosen schwarz umrandete Flecke entstehen, die wir jedoch nicht gefunden haben.

Der allgemeine Habitus besonders der Bäume und Sträucher gibt auch zuweilen Anhaltspunkte, aber keine sicheren Merkmale für SO_2-Schäden. Laubbäume können sich bei chronischen Schäden vorzeitig im Herbst verfärben, und Koniferennadeln fallen sehr leicht ab, so daß in rauchbetroffenen Nadelwäldern gewöhnlich eine sehr dicke Lage Nadeln und verdorrter Zweigspitzen den Boden bedeckt, die sich verhältnismäßig lange unzersetzt hält (höherer SO_3- und oft auch Harz- und Fettgehalt der Nadeln, eventuell auch Schwächung der Mikroflora des Bodens). Nach der von Gerlach (1907, 381) ausgebauten Hartigschen „Sonnenprobe" sollen abgeschnittene, SO_2-beräucherte Fichtenzweige, in den Sonnenschein gelegt, ihre Nadeln viel schneller verlieren als gesunde Zweige. Doch hat dieser Nachweis nicht immer stichgehalten. Die Wipfeldürre, die oft an rauchkranken Bäumen zu beobachten ist, wird zuweilen auch durch andere Momente, u. a. Senkung des Grundwasserstandes, bewirkt. Hin und wieder, besonders bei einmaligen, heftigen Rauchstößen, kommt es vor, daß die Bäume und vor allem Hecken nur einseitig an der der Rauchquelle zugewandten Seite beschädigt werden. Damit ist stets am sichersten ein Hinweis auf Rauchschaden gegeben, allerdings ebenfalls nicht speziell auf SO_2-Schaden.

Das Dickenwachstum der Stämme kann dann leicht zurückgehen, wenn SO_2-haltige Abgase mehrere Jahre hindurch auf einen Waldbestand einwirken und daher die Blätter bzw. Nadeln nicht mehr in normalem Maße assimilieren. Im extremen Fall werden nur noch schmale, eventuell gar nicht ganz geschlossene Ringe weitlumigen Frühjahrsholzes gebildet. Außer dem Massenwachstum leidet dadurch auch die Qualität des Holzes, da in erster Linie die Libriformfasern fehlen, die die Festigkeit bedingen (vgl. Wieler 1905, 280). Da geringe Holzbildung ganz allgemein bei schlechter Ernährung eintritt, so deuten die Jahresringe nur dann auf Raucheinfluß hin, wenn sie, dem Einsetzen und Anhalten der Beräucherung parallelgehend, mehrere Jahre hindurch außergewöhnlich schmal wachsen.

In den Beschädigungen der Lentizellen junger Zweige glaubte Neger (1919, 133) ein sicheres Kennzeichen für einen SO_2-Einfluß gefunden zu haben. Wie bei den Blättern durch die Spaltöffnungen, so kann die SO_2 durch die Lentizellen in die Zweige eindringen und beschädigt das Rindengewebe. Neger hält es für typisch, daß die Beschädigung mit gleichem Radius nach allen Seiten sich ausbreite, die Masse der gebräunten und zerstörten Rindenzellen durch einen breiten Wundkorkstreifen abgegrenzt werde und äußerlich als Hof um die Lentizellen herum erscheine. An zahlreichen SO_2-beschädigten Proben der meisten heimischen Baumarten fanden wir zwar ähnliche Querschnittsbilder, wie Neger sie beschreibt. Ein Schadenshof um die betroffenen Lentizellen war aber äußerlich nie deutlich zu sehen. Vor allem jedoch handelt es sich auch bei den stärker wuchernden Lentizellen nur um Füllzellen, gebildet von der Epidermis oder der ersten subepidermalen Schicht, die gebräunt oder geschrumpft waren. Immer bildete die subepidermale Schicht den abschließenden Korkring, und die eigentlichen Rindenzellen innerhalb dieses Streifens waren niemals beschädigt. Füllzellen fanden wir aber in vielen Fällen bei Proben aus absolut rauchfreier Gegend, so z. B. bei Fagus, Quercus, Fraxinus, Syringa, Crataegus, Prunus, Betula, in gleicher Menge, gleich stark gebräunt und von gleich breitem, manchmal sogar mehrfachem Korkstreifen abgegrenzt wie bei den rauchbeschädigten Proben, so daß es wohl als aussichtslos gelten muß, an den Lentizellen einen Raucheinfluß oder gar die Art desselben mit Sicherheit zu erkennen.

Einige der anatomischen Veränderungen an SO_2-beschädigten Blättern sind geeignet, die Diagnose weiterhin zu stützen. Zunächst wird das Mesophyll regelmäßig stärker betroffen als die Epidermis und ist gewöhnlich durch die ganze Blatthöhe hindurch gleichmäßig beschädigt. Daß die Zerstörung von den Spaltöffnungen her, durch die die SO_2 eindringt, vorschreite und nach den Palisaden zu allmählich abnehme (Baldermann 1927, 7), läßt sich nicht beobachten. Im Gegenteil sind teilweise sogar die Palisadenzellen (intensivere Belichtung und Assimilationstätigkeit) schon weiter desorganisiert als das Schwammparenchym. In den noch

grünen Teilen der betroffenen Blätter erscheinen die Chloroplasten gequollen, werden flockig oder körnig und gehen schließlich in der plasmatischen Grundmasse auf. Die desorganisierten Inhaltsstoffe lagern sich meistens in breiter Schicht der Zellwand an im Gegensatz zu anderen Schadensursachen und zu Rauchschäden durch andere Gase, bei denen der Zellinhalt sich in der Mitte der Zelle nach Art einer Plasmolyse zusammenzuballen pflegt. Bei der Verquellung der Chloroplasten können die nach Baldermann typischen ketten- und biskuitförmigen Vereinigungen entstehen, finden sich jedoch nicht immer. Nach Baldermann soll ferner in SO_2-kranken Blättern das kranke Gewebe ganz allmählich in gesundes übergehen, während bei natürlich vertrocknenden Blättern hier eine scharfe Grenze sein soll. Tatsächlich finden sich sowohl scharfe Abgrenzung wie allmählicher Übergang in durch die verschiedensten Ursachen beschädigten Blättern; es richten sich diese Verhältnisse wohl mehr nach Intensität und Alter des schädlichen Einflusses als nach seiner Art. Nicht charakteristisch sind ferner der pantoffelförmige Querschnitt beräucherter Fichtennadeln nach Sorauer (1911, 46) und die Rotfärbung der Schließzellen in den Nadeln nach Hartig (1896, 245; gegenteiliger Ansicht: Sorauer 1899 und Neger 1915, 195), die sich ebensowohl in unberäucherten, aus anderen Ursachen erkrankten Proben finden können, wie sie auch nicht immer in SO_2-kranken Nadeln auftreten.

Farbreaktionen, die wir mit verschiedenen Reagentien an SO_2-beschädigtem Material anstellten, ergaben keine brauchbaren Merkmale. Ebensowenig bestätigte sich die von Rippert (1915, 779) angegebene Färbung mit Methylenblau, wonach rauchkranke Blätter, mit absolutem Alkohol extrahiert, in Methylenblaulösung nicht mehr die reine blaue Farbe wie gesunde Blätter annehmen, sondern sich grünlich oder nur blaß färben sollen. Gesunde Sambucusblätter färbten sich jedoch noch in stärkerem Maße grüngelb bis grünblau als experimentell beräucherte Blätter der gleichen Pflanze. Auch wurden gesunde Crataegusblätter fleckig gelb und grün, und vor allem nehmen Blätter, die sich aus irgendwelchen anderen Gründen schon gebräunt haben, in Methylenblau keine reinen blauen Farbtöne mehr auf. Derselbe Einwand ist gegen die Farbmethode Wielers (1905, 81) mit Methylenblau an Schnitten zu machen. Dabei beeinflussen auch oft die den blau gefärbten Membranen anliegenden noch grünen Chloroplasten den Farbton.

Die botanische Untersuchung, die besonders auch vor Verwechslungen mit anderen, vor allem den anatomisch leichter erkennbaren parasitischen Schäden zu schützen vermag, liefert also kein einzelnes für sich allein beweisendes Kennzeichen für einen SO_2-Schaden. Die einseitige Beschädigung und Wipfeldürre der Bäume, interkostales Auftreten der oft doppelt umrandeten Blattflecke, Beschädigungen in allen Mesophyllschichten, höchste Empfindlichkeit der Chloroplasten, besonders an den

Grenzzonen der Flecke erkennbar, und Wandanlagerung der Zellinhaltsstoffe ohne dunkle Ausfällungen in den Epidermis- und Mesophyllzellen geben, besonders in ihrem Zusammentreffen, zwar Anhaltspunkte für SO_2-Beschädigung, sind aber im einzelnen nicht eindeutig genug. Der Nachweis von Phäophytin, der den Einfluß von Säuren bzw. sauren Gasen anzeigt, ist leider nicht spezifisch für SO_2. Auch aus diesen Gründen bedarf es wohl keines Hinweises, daß eine endgültige Diagnose niemals auf Laboratoriumsuntersuchung allein gegründet, sondern stets erst nach genauer Erforschung der örtlichen Verhältnisse abgegeben werden kann. Dabei spielen die Zunahme der Beschädigung nach der Rauchquelle hin, die Hauptwindrichtung und nicht zuletzt die bekannte ungefähre Resistenz der Pflanzenarten eine wichtige Rolle.

Hand in Hand mit der Ortsbesichtigung und der botanischen Analyse pflegt die chemische Untersuchung zu gehen. Sie ersteckt sich auf Pflanzen, Boden, Luft und kann bei den Pflanzen qualitativer Art sein, wie sie für eine SO_2-Beurteilung schon genügen würde. Oder in vielen Fällen muß sie auch quantitativer Art sein, wenn es sich darum handelt, ältere Schäden nachzuweisen in der Zunahme des Sulfatgehaltes nach dem Rauchherd hin. Wir haben uns bemüht, die Untersuchungen durch mikrochemische Prüfungen ähnlich wie bei den Flußsäureschäden (s. Bredemann und Radeloff 1932) zu ergänzen, die den Nachweis geringster Mengen gestatten und auch an Ort und Stelle des Schadens leicht durchführbar sind.

Die qualitative Feststellung von Sulfit-Ionen in den Blättern stellt den eindeutigen Nachweis einer Einwirkung SO_2-haltiger Abgase dar; denn im Gegensatz zu Sulfaten, die ständig und in wechselnder Menge in den Pflanzen vorhanden sind, kommen Sulfite in normalen unberäucherten Blättern nicht vor.[1]) Auch verdient der SO_2-Nachweis aus dem Grunde den Vorzug, weil bei plötzlicher Einwirkung hochkonzentrierter Gase (starke „akute“ Schäden) eventuell nur kleine SO_2-Mengen aufgenommen werden, die keine eindeutige SO_4-Ionen-Zunahme im Blatt dartun würden (vgl. u. S. 191). Zum Nachweis der Sulfite sind eine Reihe qualitativer wie quantitativer Methoden im Gebrauch, u. a. Blaufärbung von Stärke in Kaliumjodatlösung (Chamot nach Benedetti-Pichler 1926, 49), Anlagerung an Formaldehyd nebst Titration der entstehenden Lauge (Rosenthaler 1927, 27), Destillation in Jodlösung und Titrieren mit Thiosulfat (Woidich 1930, 147), Destillation in Jodlösung und Fällung als Bariumsulfat (König 1926, 216), Oxydation in Bromdämpfen und Fällung als $BaSO_4$ (König 1923, 862), Reduktion zu Sulfid und Bestimmung als Bleisulfid (König 1926, 147).

[1]) Anm.: Pflanzen, die wie die Alliumarten und einige Cruciferen freie Sulfide (besonders Allylsulfide) enthalten, sind naturgemäß für die nachstehend beschriebene Untersuchungsmethode ungeeignet.

Die Reduktion von Kaliumjodat erwies sich für die mikrochemische Analyse von rauchbeschädigtem Material nicht als empfindlich genug und ist zudem nicht eindeutig. — Der Nachweis als Bleisulfid wurde in der Mikrogaskammer (Deckglas mit angedrücktem Bleiazetatpapier) und auch mit größerer Pflanzenmenge in kleinen Kolben geprüft, erwies sich indessen in beiden Fällen als unzuverlässig. Zuweilen blieb die Reaktion an SO_2-beschädigten Proben aus, trat dagegen nicht selten, wenn auch nur mit schwach brauner Farbe, auch in den Kontrollproben ein.

Gut bewährte sich Fällung als Bariumsulfat nach voraufgehender Oxydation in folgender Weise: Etwa 0,5 g der frischen Blattsubstanz, möglichst fein zerkleinert, ohne viel Blattsaft zu verlieren, werden in der Mikrogaskammer nach Molisch mit zwei Tropfen 1 %iger Phosphorsäure versetzt, die Mikrogaskammer wird mit einem Deckglas bedeckt, auf deren Unterseite ein hängender Wassertropfen angebracht ist, und das Ganze ¼ Stunde lang im Wärmeschrank bei 50° C gehalten. Vorhandene SO_2 destilliert in den am Deckglas hängenden Wassertropfen über[1]. Nach beendeter Destillation wird das Deckglas auf dem Hals einer offenen Bromwasserflasche etwa zehn Minuten lang den abdunstenden Bromdämpfen ausgesetzt. Nachdem der braun gefärbte Destillatstropfen sich an der Luft wieder entfärbt hat, fügt man einen winzigen Tropfen 1 %iger $BaCl_2$-Lösung hinzu. Enthält die Probe SO_2, so fällt ein Niederschlag von $BaSO_4$ aus. Bei nicht zu geringer Menge SO_2 gelingt es meistens (seitliches Hineindiffundieren des Reagenstropfens), die Fällung in kristallinischer Form zu erhalten. Unter dem Mikroskop bei etwa 300facher Vergrößerung ist diese leicht zu identifizieren. Im typischen Fall kristallisiert Bariumsulfat in Form rechtwinklig-kreuzförmiger Kristallskelette, deren Arme ungleich lang sind (rhombisches System). Nach Balarew (1922, 76) stellen diese kreuzförmigen Kristallskelette ein Bariumkomplexbariumsulfat, $Ba[Ba_5(SO_4)_6]$, dar, das zu den einfachen Bariumsulfaten und damit zu prismatischen Formen und x-förmigen Skeletten übergehen kann (vgl. dazu Haushofer 1885, 16; Hahn 1923, 260 und Kolthoff und van Cittert 1923, 396). Diese beiden letzten Formen traten bei den vorliegenden Konzentrationen jedoch sehr selten auf. Sind nur sehr kleine SO_2-Mengen vorhanden, so prägen sich die Kristalle oft nicht deutlich aus; die Spitzen der Kreuze sind dann abgestumpft und die Winkel teilweise ausgefüllt, und es ist dann nur an der unterschiedlichen Lichtbrechung das ursprüngliche Achsenkreuz noch zu erkennen. Zur weiteren Identifizierung kann der Niederschlag auch auf seine Unlöslichkeit in Salzsäure geprüft werden. Fällt dagegen das Bariumsulfat amorph

---

[1]) An Stelle der Mikrogaskammer kann man auch niedrige Gläschen mit plangeschliffenem Rand und an Stelle des Wärmeschrankes ein geeignetes Wasserbad verwenden und sich eine an Ort und Stelle verwendbare Apparatur für gleichzeitig auszuführende Serienuntersuchungen leicht zusammenstellen.

aus, so ist es trotz des eindeutigen Analysenganges nicht genügend gekennzeichnet.

An Stelle der Bromdämpfe läßt sich auch Wasserstoffsuperoxyd zur Oxydation verwenden. Es kann dann der am Deckglas hängende Wassertropfen durch einen Tropfen zirka 10 % iger wässriger H_2O_2-Lösung ersetzt und anschließend unmittelbar mit $BaCl_2$ gefällt werden. — Unter verschiedenen Säuren, die zum Austreiben der SO_2 geprüft wurden, bewährte sich 1 % ige Phosphorsäure am besten. 1 % ige Salpetersäure verursachte in einigen Fällen auch schon bei gesunden Pflanzen eine amorphe Fällung; ebenso erwies sich 1 % ige Salzsäure als zu stark. Da bei der Destillation unberäucherter, gesunder Pflanzenteile mit HCl recht oft eine Fällung bewirkt wird, so muß angenommen werden, daß selbst bei der schwachen Erwärmung auf 50° C die HCl eine Zersetzung schwefelhaltiger organischer Substanz, wobei SO_2 entsteht, hervorzurufen vermag. Oft ist die Zersetzung äußerlich schon dadurch gekennzeichnet, daß die Pflanzenmasse in der Mikrokammer nach der Destillation oberflächlich vergilbt ist. Bei 1 % iger Phosphorsäure und vorsichtigem Erwärmen auf nicht über 50° C findet nach unseren zahlreichen Versuchen normalerweise keine Zersetzung schwefelhaltiger organischer Substanz statt. Immerhin muß man sicherheitshalber stets Parallelproben mit gleichem gesunden Pflanzenmaterial unter gleichen Bedingungen ansetzen, und der SO_2-Nachweis im Mikrodestillat sollte nur dann als erbracht angesehen werden, wenn entstehende $BaSO_4$-Fällung mikroskopisch an ihrer typischen Kristallkreuz-Form sicher zu erkennen ist. In experimentell durch Salzsäure-, Salpetersäure- oder Flußsäuredämpfe beschädigten Blättern wurden nachweisbare SO_2-Mengen infolge Eiweißzersetzung erst dann frei, wenn die Konzentration der Dämpfe so außergewöhnlich hoch gewählt wurde, wie sie in praktischen, zur Untersuchung kommenden Rauchschadenfällen wohl nie vorkommt.

Nach dieser Methode wurden zahlreiche durch schwefligsaure Abgase beschädigte Pflanzenproben auf SO_2 untersucht. In der Regel ging das Maß der Fällung dem der Beschädigung parallel. Im Umkreis einer brennenden Schlackenhalde wurden Proben mehrerer Pflanzenarten aus verschiedener Entfernung von der Rauchquelle gesammelt. In den nahe der Halde gewachsenen Proben, deren Blätter durchweg stark verfärbt waren, ließ sich an erheblichen Niederschlägen größtenteils gut ausgebildeter Kristallformen die aufgenommene SO_2 leicht erkennen. Mit wachsender Entfernung von der Halde wurden auch die Fällungen aus den Proben schwächer und vorwiegend amorph und konnten oft nur an wenigen sehr kleinen, eben noch erkennbaren Kreuzen als Bariumsulfat identifiziert werden. Zum Teil konnte aber noch SO_2 in ca. 1000 m von der Halde entfernt gewachsenen Birken, Eichen und Buchen nachgewiesen werden, deren Blätter äußerlich unbeschädigt grün erschienen. Jedoch zeigte sich

anatomisch, daß die Chloroplasten schon leicht verquollen waren, sich teilweise mit anderen vereinigt und der Zellwand angelegt hatten. Es handelte sich hier um die oft bestrittenen „unsichtbaren Schäden", auf die zuerst Sorauer und Ramann (1899, 50) hinwiesen. Die Methode hat diese also glatt erkennen lassen und damit die örtliche Abgrenzung des Schadens erleichtert.

In allen untersuchten Koniferennadeln ließ sich keine bzw. weit weniger SO_2 feststellen als in den gleich stark beschädigten Laubblättern aus gleicher Entfernung von der Rauchquelle. Es muß angenommen werden, daß die SO_2 sich nur kürzere Zeit als solche in den Nadeln erhält und recht bald oxydiert wird. Man wird daher für diese Untersuchungen Laubblätter vorziehen.

Acht Tage nach der Probeentnahme konnte auch in den stärker beschädigten Laubblattproben keine SO_2 mehr nachgewiesen werden. Auch an experimentell beräucherten Bohnen-, Raps- und Wegerichpflanzen ließ sich nur in den ersten beiden Tagen nach der Beräucherung SO_2 noch eindeutig in den wesentlich beschädigten Blättern feststellen; später wurde die Fällung schwächer und amorph und ließ eine sichere Identifizierung nicht mehr zu.

An älter beschädigtem Material bleibt daher nur noch die Prüfung auf SO_4-Ionen. Da Sulfate immer in den Blättern vorhanden sind, kommt es auf den Nachweis an, ob in der Nähe der Rauchquelle die Blätter größere Mengen enthalten. Das ist durch die bekannten chemischen Methoden leicht festzustellen. Als Vorprüfung kann ein mikrochemisch vergleichend-abschätzendes Verfahren nützlich sein. 1,0 g zerkleinerter Blatttrockensubstanz läßt man in niedrigem Glaszylinderchen etwa zwölf Stunden in 3 ccm Wasser extrahieren. Zu dem unter leichtem Druck abgepreßten Wasserauszug werden 5 Tropfen 5 $^0/_0$iger HCl zugesetzt und filtriert. Auf einem Objektträger gibt man dann zu 0,01 ccm des Filtrats einen winzigen Tropfen 1 $^0/_0$iger $BaCl_2$-Lösung seitlich vorsichtig hinzu, möglichst ohne das Ineinanderdiffundieren der beiden Tropfen zu stören. Über einer schwarzen Glasplatte wird dann die Stärke des Niederschlages in den verschiedenen Versuchsproben wie in der Kontrolle miteinander verglichen. Auf diesem einfachen Wege erhält man vorwiegend dann Anhaltspunkte für eine SO_2-Beschädigung, wenn in mehreren aus verschieden weiten Umkreisen um die Rauchquelle stammenden Proben der $BaSO_4$-Niederschlag in deutlichem Maße mit der Annäherung an die Rauchquelle zunimmt. So konnten wir in mehreren Versuchsreihen an Buchen, Eichen und Birken, aus dem Umkreis der oben erwähnten brennenden Schlackenhalde stammend, beobachten, wie bei den fabriknäheren Proben der Niederschlag beim Zufließen des $BaCl_2$-Tropfens als dicker, weißer Strahl hervorschoß, während bei den entfernteren Pflanzen nur eine schwächere mehr oder weniger deutlich sichtbare Trübung entstand. In

vielen anderen Fällen, so an Eschen, Holunder, Weißdorn, Birnen, Pflaumen, Johannisbeeren, Rosen, Flieder, Dahlien, Endivien, Runkeln, Rotklee, Roßkastanien u. a., fiel bei den beräucherten Proben eine weit stärkere Fällung (vorwiegend aus den kreuzförmigen Kristallskeletten bestehend) aus gegenüber dem nur schwach sichtbaren, hauptsächlich amorphen Niederschlag bei den Kontrollpflanzen. Es sei jedoch betont, daß mit dieser vergleichenden Sulfatprüfung nie ein Beweis, sondern höchstens ein Anhaltspunkt für einen SO_2-Schaden gegeben ist.

Dasselbe gilt für die histochemische Untersuchung beschädigter Blätter auf Sulfat-Ionen. Legt man Blattquerschnitte unmittelbar in eine $BaCl_2$-Lösung, so fallen zwar vorhandene Sulfate aus, die Kristallbildung des Bariumsulfates wird aber durch die anwesenden organischen Zellinhaltsstoffe verhindert. Diese vorher herauszulösen verbietet sich, weil auch die Sulfate mit in Lösung gehen würden. Am besten eignete sich eine 1 %ige Lösung von $BaCl_2$ im Chloralhydrat-Salzsäure-Gemisch (10 Teile Chloralhydrat, 5 Teile Wasser, 5 Teile Glycerin und 3 Teile 25 %-iger Salzsäure) nach Bredemann (1913, 330), die zugleich die Sulfate an Ort und Stelle fällt und die organischen Inhaltsstoffe allmählich löst. Es entstehen so klare Schnittbilder, in denen der Niederschlag deutlich hervortritt. Zugleich verhindert die Salzsäure, daß andere Bariumsalze eine Sulfatfällung vortäuschen. In der Regel trat an SO_2-beschädigten Blättern ein dichter Niederschlag auf, der den gesunder Vergleichsproben weit überwog. Wenn die Fällung auch oft kristallinisch ausfiel, so waren die Kreuze hier doch selten so gut ausgeprägt wie meistens in den Destillaten. Vor allem ist aber darauf zu achten, daß sich nicht alle Pflanzen gleich gut zu dieser Untersuchung eignen. Wir haben aus den verschiedensten Gegenden, so aus der näheren und weiteren Umgebung Hamburgs, aus Holstein, Brandenburg, Hannover, Ostpreußen und der Schweiz stammende Pflanzenproben nach der angegebenen Weise auf ihren Sulfatgehalt geprüft. Wenn auch der Sulfatgehalt der Pflanzen stark von ihrem Standort abhängt, so zeigte sich doch, daß einige Pflanzenarten durchweg einen niedrigeren Sulfatgehalt haben als andere. Zu nennen sind u. a. Eiche, Rotbuche, Linde, Himbeere, Heckenrose, Raygras, deren Blattquerschnitte in $BaCl_2$-Chloralhydrat-Salzsäure durchgehends völlig klar erschienen, während Rüben, Huflattich, Wegerich, Weißdorn u. a. schon normalerweise oft eine Fällung ergaben. Bei der Untersuchung rauchkranken Materials wären daher, soweit es möglich ist, die erstgenannten Arten vorzuziehen. In erster Linie muß jedoch immer darauf geachtet werden, daß nur Pflanzen der gleichen Art, möglichst des gleichen Alters (Nadeljahrgang!) und von gleichartigem Standort miteinander verglichen werden dürfen.

Die angegebenen Beobachtungen wurden sowohl an eingesandtem Material als auch an im Sommer 1931 in eigenen Versuchen beräucherten

Pflanzen angestellt. Als Begasungsraum wurde ein würfelförmiges Gehäuse von genau 1 cbm Inhalt hergestellt, dessen sämtliche Seitenwände und Dach aus Glasfenstern bestehen. Zum Hineinstellen der Pflanzen kann die vordere Seitenwand, die obendrein eine leicht zu öffnende Klappe enthält, als Tür abgenommen werden und ist innen mit Filzstreifen abgedichtet. Das Gas wird durch eine Durchbohrung der einen Seitenwand zugeführt. Die aus einer Bombe entnommene schweflige Säure wird in eine graduierte Bürette geleitet, gemessen und mittels einer Wasserhebervorrichtung in den Begasungsraum gedrückt (Wasser durch eine Paraffinölschicht vom Gas getrennt). Ein ab und zu von Hand gedrehter Propeller sorgt für Durchmischung der Gasatmosphäre. Wenn in den Mittagsstunden begast werden sollte, wurde zwecks Vermeidung zu hoher Temperaturen im Begasungsraum das Rauchhaus mit einem aus Dachpappe und Holzrahmen hergestellten Dach beschattet. — Ferner wurde ein weiterer Würfel für Dunkelversuche gebaut, dessen Wände und Dach völlig aus Sperrholz bestehen, das mehrere Male mit Firnis geölt und mit säurefestem Kopallack überzogen worden ist. Die Seitenwände fassen mit Zapfen lose in die Bodenfläche ein, so daß der ganze Würfel abgehoben und über den Glaskasten gestülpt werden kann, über den er genau paßt. Es können so Glasraum und Dunkelraum für gleichzeitige Hell- und Dunkelversuche benutzt wie auch der Glasraum für vorübergehende Dunkelbehandlung eingerichtet werden.

Zunächst wurden im Glasraum eine junge Eiche (*Quercus pedunculata*), eine junge Hainbuche und ein Topf mit Stangenbohnen einer 2stündigen Beräucherung mit SO_2 in der Konzentration 1:50000 ausgesetzt. Anschließend wurden die Pflanzen ins Freie in die Sonne gestellt. Am nächsten Morgen sahen nur wenige Blätter der Bohnenpflanzen etwas matt aus. Nach einer wiederholten Begasung wurden zuerst die Bohnen-, bald aber auch die Hainbuchenblätter fleckig. Besonders die älteren Bohnenblätter verfärbten sich in ganzer Fläche interkostal fahlgrün, während die jüngeren Blätter zahlreiche gelbbraune Flecke bekamen. Die Reaktion auf SO_2 im Mikrodestillat trat noch 3 Tage nach der Beräucherung deutlich positiv ein (Kontrolle negativ), nach weiteren zwei Tagen war sie eben noch erkennbar. Die Hainbuche bekam erst später als die Bohnen und in geringerem Maße rotbraune Flecke interkostal, während die Eiche keinerlei Schaden aufwies. Es bestätigte sich damit die bekannte hohe Empfindlichkeit der Bohnenpflanzen und geringe Anfälligkeit der Eichen. — Mit der gleichen Konzentration wurden anschließend Rotbuche, Blutbuche und gemeine Fichte beräuchert. Auffälligerweise traten zuerst auf der Rotbuche die typischen interkostalen rotbraunen Flecke auf. Die sonst so sehr empfindliche Fichte begann erst am folgenden Tage ihre Nadeln von deren Spitzen her rötlich zu verfärben. Die Blutbuche blieb unversehrt; doch ist immer darauf zu achten, ob auch anatomisch keine Ver-

änderungen eingetreten sind; wir konnten in anderen Versuchen beobachten, daß Blutbuchenblätter äußerlich kaum fleckig erschienen, ihre Chloroplasten aber schon völlig zerstört waren. — In einer weiteren Versuchsreihe wurden je eine *Picea excelsa*, *Picea sitchensis*, *Fagus silvatica*, *Acer pseudoplatanus*, *Quercus rubra* und *Fraxinus excelsior* einmalig mit SO_2 1:10000 begast. Dieser hohen Konzentration erlag zuerst die Esche, die auch in einem späteren Versuche eher litt als die Koniferen (vgl. a. Wislicenus 1914, 164; dagegen: Haselhoff und Lindau 1903, 117, die die Esche als sehr widerstandsfähig ansprechen). Auch die gewöhnliche Fichte verfärbt sich dann sehr bald. Besonders ihre diesjährigen Nadeln wurden erst fahlgrün, bald völlig fuchsrot, während die vorjährigen Nadeln sich erst später und nur graugrün verfärbten. Die Sitkafichte widerstand weit besser. Am 6. Versuchstage waren an ihren diesjährigen, schon ausgewachsenen Maitrieben alle oberen Nadelhälften rotbraun. Die noch im Wachstum begriffenen jüngsten Sommertriebe dagegen hatten nur die Spitzen ihrer Nadeln beschädigt, während die vorjährigen Nadeln kaum Flecke aufwiesen. Das Bild entspricht den Ergebnissen von Wislicenus (1914, 133), nach denen die noch wachsenden Blatttriebe weniger, dagegen besonders die fertigen und intensiv assimilierenden Blatteile betroffen werden. Bei der angewandten hohen Konzentration starben auch die Buchenblätter bald ab, während Ahorn und Eiche in ungefähr gleichem Maße nur einige Flecke erhielten. — Auch in diesen stärker beräucherten Pflanzen konnte noch bis zum fünften Tage nach der Begasung SO_2 auf dem Wege der Mikrodestillation in den Blättern festgestellt werden. Ebenso konnte in gleichfalls relativ stark (zweistündig mit SO_2 1:25000) beräucherten Bohnen-, Raps- und Wegerichpflanzen SO_2 im Mikrodestillat einwandfrei festgestellt werden. Während bei so kurzer, intensiver Einwirkung nicht immer genügend SO_4-Ionen in den beschädigten Blättern festgelegt werden, um noch in der quantitativen Sulfatbestimmung eine sichere Diagnose zuzulassen (s. a. Beran und Reckendorfer 1931, 126), führt die qualitative SO_2-Ermittlung hier noch eindeutig zum Ziel. Allerdings geht die Reaktion einige Tage nach der Beräucherung bald zurück (s. o.).

Schließlich wurden zwei Roteichen und zwei Bergahorne im Glasraum und eine entsprechende Reihe im Dunkelraum beräuchert, und zwar wurden in jeder Reihe eine Eiche und Ahorn benetzt und die anderen trocken gelassen. Die Bäume ertrugen am 1. und 2. Tage je eine zweistündige Beräucherung mit SO_2 1 : 3300 ohne sichtlichen Schaden; am 3. und 4. Tage wurde je zweistündig mit 1:10 000 beräuchert. Es stellte sich heraus, daß die benetzten Bäumchen etwas mehr litten als die trockenen, die belichteten aber nur wenig mehr als die verdunkelten und die Ahorne sich etwas anfälliger erwiesen als die Eichen. Bei dieser äußerst starken SO_2-Einwirkung, wie sie zur Beschädigung der sehr widerstandsfähigen Eichen-

und Ahornarten nötig ist, schützt also die Verdunkelung die Pflanzen nicht mehr vor Schaden. Die SO_2-Gase greifen dann offenbar die Zellinhaltsstoffe unmittelbar an, ohne Beziehung zu der Assimilationstätigkeit. Benetzte Blätter sind nach diesem Versuch etwas gefährdeter als trockene, wahrscheinlich deswegen, weil die anhaftende Feuchtigkeit die SO_2 zu absorbieren vermag und die beim allmählichen Eindunsten wieder freiwerdende SO_2 teilweise durch die weit geöffneten Stomata in die Blätter eindringt. Ein Anätzen der befeuchteten Blattepidermis durch die SO_2 findet nicht statt.

Außer den Pflanzen wurden auch Bodenproben untersucht, die in der Nähe der obengenannten brennenden Schlackenhalde entnommen worden waren. Wenn auch bei Rauchschäden die direkte Beschädigung der oberirdischen Pflanzenorgane im Vordergrund zu stehen pflegt, so ist es bekanntlich nicht ausgeschlossen, daß bei dauernder Einwirkung die sauren Abgase auch mittelbar durch eine Versauerung des Bodens schädigen können. Nach Thalau (1913, 23) werden Sulfite in Mischung mit Boden in kurzer Zeit oxydiert. Es fragte sich nun, wie lange nach der Beräucherung sich auf mikrochemischem Wege noch SO_2 in den begasten Böden nachweisen läßt. Zur Analyse gelangten vier Bodenproben, die aus verschiedener Entfernung von der brennenden Halde stammten. Am zweiten Tag nach der Probeentnahme, also nach der fortwährenden Beräucherung, ergab der der Halde am nächsten entnommene Boden, auf die gleiche Weise wie die Pflanzenproben auf SO_2 geprüft, im Mikrodestillat eine zwar deutliche, aber nur schwache und amorphe Fällung. Die weiter entfernten Böden dagegen zeigten alle drei eine recht erhebliche $BaSO_4$-Fällung in deutlich kristallinischer Form. Daß die schwächer beräucherten Böden mehr Sulfite aufwiesen als der nächst der Halde gelegene Boden, erklärt sich wohl aus ihrer Beschaffenheit: Während letzterer ein dürrer Sandboden war, bestanden die anderen drei Böden aus stark humosem, lehmigen Sand, der sicher weit besser die Abgase zu absorbieren vermag. Acht Tage nach der Probeentnahme fielen in den Mikrodestillaten aber nur noch Spuren einer amorphen, uncharakterisierten Fällung aus, die keine Diagnose mehr zuließen. Bemerkenswert ist, daß die wenn auch wohl gebundene SO_2 so lange im Boden erhalten blieb, obwohl die pH-Werte der Böden zwischen 4,0 bis 4,5 und nur bei dem entferntesten Boden bei 5,5 lagen.

Literatur.

Balarew, D., Zur Bestimmung der Schwefelsäure als Bariumsulfat. Angabe zur Existenz einer Komplexbariumschwefelsäure. Zeitschr. anorg. u. allg. Chem. 1922, **123**, 69—82.

Baldermann, W., Die Wirkung und Feststellung von Rauchschäden im Ruhrbezirk. Berg- u. Hüttenmänn. Zeitschr. „Glückauf" 1927, Nr. 12, Sep., 9 S.

Benedetti-Pichler, A., Die Fortschritte in der Mikrochemie in den Jahren 1915 bis 1924. Mikrochemie 1926, **4**, 21—96.

Beran, F. und Reckendorfer, P., Der Wert der chemischen Analyse zur Beurteilung von Rauchschäden an Koniferen. Centralbl. ges. Forstwesen 1931, **57**, 121—126.

Bredemann, G., Salzsäure-Chloralhydrat als praktisches Hilfsreagens. Landw. Versuchs-Stat. 1913, **79—80**, 329—337.

— Botanische Untersuchungen bei Rauchschäden. In: Haselhoff, E., Bredemann, G., und Haselhoff, W., Entstehung, Erkennung und Beurteilung von Rauchschäden. Berlin, 1932.

— und Radeloff, H., Zur Diagnose von Fluor-Rauchschäden. Phytopathologische Zeitschrift 1932.

Dörries, W., Über die Brauchbarkeit der spektroskopischen Phäophytinprobe in der Rauchschaden-Diagnostik. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1932, **42**, 257—273.

Gerlach, Einige charakteristische Merkmale und Beweismittel für das Vorhandensein von Rauchschäden in Fichtenbeständen auf Grund eigener Beobachtungen und Erfahrungen. Allg. Forst- u. Jagdztg. 1907, **83**, 375—382.

Grießmeyer, H., Über experimentelle Beeinflussung des Eisens im Chloroplasten. Planta 1930, **11**, 331—358.

Hahn, F. L., Analytische Fällungen bei extremer Verdünnung. Zeitschr. f. anorg. u. allg. Chemie 1923, **126**, 257—268.

Hartig, R., Über die Einwirkung des Hütten- und Steinkohlenrauches auf die Gesundheit der Nadelbäume. Forstl.-naturwiss. Zeitschr. 1896, **5**, 245.

Haselhoff, E. und Lindau, G., Die Beschädigung der Vegetation durch Rauch. Leipzig 1903, 394 S.

Haushofer, K., Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885, 162 S.

König, J., Die Untersuchung landwirtschaftlich und landwirtschaftlich-gewerblich wichtiger Stoffe. Berlin 1923, 5. Aufl., **1**, 949 S.; 1926, **2**, 971 S.

Kolthoff, J. M. und van Cittert, M. J., Die Sulfatbestimmung nach F. Hahn bei extremer Verdünnung. Zeitschr. f. anal. Chem. 1923, **63**, 392—404.

Neger, F. W., Rauchwirkung, Spätfrost und Frosttrocknis und ihre Diagnostik. Tharandter Forstl. Jahrb. 1915, **66**, 195—212.

— Ein neues, untrügliches Merkmal für Rauchschäden bei Laubhölzern. Angew. Botanik 1919, **1**, 129—138.

Noack, Kurt, Untersuchungen zur Kohlensäureassimilation und Chlorophyllbildung in der grünen Pflanze. Deutsche Forschung; Arbeits-Notgemeinschaft Deutsch. Wiss. 1929, H. 8, 64—98.

Ost, H. und Wehmer, C., Zur Beurteilung von Rauchschäden. Chem. Industrie 1899, **22**, 233—237.

Rippert, P., Neue Beiträge zur Beurteilung von Rauchschäden im rheinisch-westfälischen Industriegebiet. Berg- und Hüttenmänn. Zeitschr. „Glückauf" 1915, **51**, 725—735, 755—759, 776—780.

Röben, M. und Dörries, W., Einige Versuche über den Einfluß von schwefliger Säure auf *Elodea canadensis*. Berichte d. Deutsch. Botan. Ges. 1932, **50**, 53—58.

Rosenthaler, L., Ein empfindliches Verfahren zum Nachweis von Sulfiten. Mikrochemie 1927, **5**, 27.

Sorauer, P., Über die Rotfärbung der Spaltöffnungen bei Picea. Notizbl. d. Kgl. Gartens und Museums Berlin 1899; rf. Bot. Centralbl. 1899, **80**, 137.

— Die mikroskopische Analyse rauchbeschädigter Pflanzen. Sammlg. Abhdlg. über Abgase und Rauchschäden, Berlin 1911, H. 7, 58 S.

— und Ramann, E., Sogenannte unsichtbare Rauchschäden. Bot. Centralbl. 1899, **80**, 50—56, 106—116, 156—168, 205—216, 251—262.

Stoklasa, J., Die Beschädigung der Vegetation durch Rauchgase und Fabrikexhalationen. Berlin und Wien 1923, 472 S.

Thalau, W., Die Wirkung von Sulfiten auf Pflanzen. Diss. Königsberg 1913, 49 S.

Wehner, O., Untersuchungen über die chemische Beeinflußbarkeit des Assimilationsapparates. Planta 1928, **6**, 543—590.

Wieler, A., Untersuchungen über die Einwirkung schwefliger Säure auf die Pflanzen. Berlin 1905, 427 S.

Wislicenus, H., Experimentelle Rauchschäden. Sammlg. Abhdlg. über Abgase und Rauchschäden, Berlin 1914, H. 10, 168 S.

Woidich, K., Über die Mikrobestimmung der schwefligen Säure in Wein und Fruchtsäften. Mikrochemie 1930, N. F. **2**, 147—150.

Zschokke, A., Sonnenbrand-, Hitztod- und Austrocknungsschäden an Reben. Gartenbauwissenschaft 1931, **4**, 196—232.

Aus dem Institut für angewandte Botanik der Universität Hamburg.

Zur Diagnose von Fluor-Rauchschäden.

Von G. Bredemann und H. Radeloff.

Mit 1 Textabbildung.

Fluorhaltige Abgase, wie solche in Form von freier Flußsäure, HF Kieselfluorwasserstoffsäure, H_2SiF_6, oder Kieselfluorid, SiF_4, vorwiegend von Phosphatdüngerfabriken, Glasfabriken, Ziegeleien, Emaillieranstalten und chemischen Fabriken ausgehen können, gehören zu den schädlichsten Raucharten. Da sie nicht selten in konzentrierteren Rauchstößen auftreten, werden die benachbarten Pflanzen oft verheerend betroffen. Gewöhnlich breiten sich die Flußsäure- und Kieselfluorwasserstoffsäure-Dämpfe indessen nicht so weit aus wie z. B. SO_2-Gase, da sie sich eher kondensieren und niedergeschlagen werden. Bei einer chemischen Fabrik, die Fluorpräparate herstellt, war z. B. im Umkreis von 150 m jegliche Baumvegetation vernichtet, und zwar angeblich schon seit Jahren, während in 1000 m Entfernung merkliche Schäden kaum mehr festzustellen waren. Flüchtiger ist das gasförmige Kieselfluorid, SiF_4, das aber bei Gegenwart von Wasser in den Blättern oder evtl. schon in der Luft in Flußsäure und Kieselsäure zerfällt, so daß die durch F-haltige Abgase verursachten Pflanzenschäden zuletzt immer auf HF zurückzuführen sind.

Äußerlich pflegen die Schäden sich zunächst als scharf begrenzte Blattflecken bemerkbar zu machen, die vorwiegend nahe den Blatträndern auftreten. Bei fortschreitender Zerstörung fanden wir in der Regel die Blätter vom Rande und von der Blattspitze her in ganzer Fläche verfärbt, und oft war nur ein schmaler grüner Streifen am Blattgrund um den Mittelnerv herum verschont geblieben. Gewöhnlich ist die beschädigte Zone scharf von der gesunden abgegrenzt. Hin und wieder treten auch kleinere isolierte Flecke in den Interkostalfeldern auf. Die Farbe der betroffenen Blatteile ist je nach Pflanzenart verschieden. Dunkel- bis schwarzbraune Verfärbung herrscht vor; Apfelblätter dagegen wurden rot-, Pflaumenblätter gelbfleckig, Luzerne bekam gelbbraune Randstreifen. Totbraun erschienen Kartoffel- und Kastanienblätter, Disteln einförmig grau, und Hafer bekam auf den Blattspreiten rote Streifen und Flecke.

Man sieht also, daß alle diese Veränderungen nicht charakteristisch sind und somit keine sicheren diagnostisch brauchbaren Merkmale bieten. In gleicher Art und Weise können Blattflecke auch von anderen Rauchgasen und weiteren, besonders atmosphärischen Einflüssen wie Frost und dgl. hervorgerufen werden. Auch anatomisch lassen sich die Fluorschäden

nicht eindeutig erkennen. Nach Wislicenus (1914, 22 und 161) können zwar F-haltige Nebel im Gegensatz zu den übrigen Rauchsäuren die Blätter unmittelbar anätzen. An zahlreichen Proben sehr verschiedenartiger F-beschädigter Pflanzen haben wir indessen nur einmal, und zwar an dem erwähnten Hafer, die Epidermis angegriffen gefunden. Vielleicht reagieren Gramineenblätter infolge ihres Kieselsäuregehaltes besonders leicht mit dem Fluor. In der Regel dringt fraglos die Hauptmenge der Fluorgase, ebenso wie die schweflige Säure und andere Rauchgase, mit den Stoffwechselgasen durch die Spaltöffnungen in die Blätter ein, am leichtesten in der Form des SiF_4. Gewöhnlich war in den von uns untersuchten Proben das Mesophyll am stärksten beschädigt, und zwar in erster Linie die Palisadenschicht. Die Inhaltsstoffe fanden sich durchgehends zu dichten strukturlosen Massen in der Zellmitte zusammengeballt und waren gelb- bis schwarzbraun verfärbt. Nur zuweilen wurden die Inhaltsstoffe vollständig aufgelöst, oder die Chloroplasten legten sich flach der Zellwand an, ohne daß Plasmolyse eintrat. Bei stärkerer Einwirkung griff die Beschädigung in gleicher Art auf das Schwammparenchym über, und auch in der oberen Epidermis fielen manchmal braune, flockige Farbmassen aus. Die Zellen der Epidermis blieben in ihrer Form gewöhnlich unversehrt, während die Mesophyllzellen bald völlig zusammenschrumpften.

Auch Früchte können den HF-Dämpfen zum Opfer fallen. An beräucherten Äpfeln fand Neger (1919, 178) äußerlich sichtbare Höfe um die Lentizellen herum, unter denen das Gewebe bis tief hinein verfärbt und zerstört war. Ebenso war das Fruchtfleisch unterhalb der Krone nekrotisiert. Wundkork war nirgends gebildet. Kotte (1929, 91) beobachtete an Bühler Frühzwetschen, die von den F-haltigen Dämpfen einer Ziegelei betroffen waren, große eingefallene Flecke von kaffeebrauner Farbe um die Spitze der Frucht herum; er nimmt an, daß sich dort die an den Früchten niedergeschlagenen Säuredämpfe ansammelten. In gleicher Weise waren Kirschen, die uns aus der Abgasatmosphäre einer Fluor verarbeitenden Fabrik zugesandt waren, nur an ihrem apikalen Ende beschädigt; das Fruchtfleisch war hier vertrocknet und dem Kern fest angewachsen (vgl. Tempel 1929, 213). An genannten Kirschen und aus derselben Gegend eingeschickten, ähnlich beschädigten Birnen konnten wir allerdings mikrochemisch, wie sonst immer an den Blattproben, nicht eindeutig eine Fluoreinwirkung nachweisen (s. S. 202).

Ohne nähere Kenntnis der örtlichen Verhältnisse bzw. der für die Beschädigungen verantwortlich gemachten Rauchquelle wird also eine Diagnose durch die genannten botanischen Untersuchungen allein, wie übrigens bei den meisten Rauchschäden, nicht zu erbringen sein. Und auch dann, wenn die Art der Rauchquelle bekannt ist und z. B. das Vorhandensein der Fluordämpfe in der Luft sich dadurch kennzeichnet, daß die Fensterscheiben im Umkreis der Rauchquelle erblinden (in einem Falle

ließen sich noch in einer Entfernung von 600 m Ätzungen an den Scheiben feststellen), wird es erforderlich sein, den Nachweis zu erbringen, daß die an den Pflanzen vorhandenen Schäden tatsächlich von Fluorgasen hervorgerufen sind. Wir haben daher versucht, die mikrochemische Untersuchung zur Hilfe heranzuziehen.

Zum mikrochemischen Nachweis von Fluor sind verschiedene Methoden im Gebrauch. Die oft angewandte Ätzungsmethode, die kürzlich von Brüning und Quast (1931, 656) zu höherer Empfindlichkeit und zu quantitativer Bestimmung ausgebaut wurde, erscheint nicht deutlich genug. Die geringen Mengen Fluor, die infolge einer Beräucherung von den Pflanzen aufgenommen werden, ergeben keine genügend sichtbare Ätzung. Gautier und Clausmann (1912, 1469, 1670 und 1753) lassen die abdestillierenden HF-Dämpfe auf Flintglas einwirken und bestimmen das durch Fluor aus dem Glas abgebundene Blei als PbS. Olivier (1923, 293) läßt SiF_4 in einen Wassertropfen destillieren und bestimmt die abgeschiedene Kieselsäure. Einen empfindlichen Fluornachweis mittels Zirkons gibt de Boer (1924, 404) an, quantitativ ausgearbeitet durch Gisiger (1931, 16). Das Zirkonreagens, das mit Alizarinsulfonsäure einen roten Farblack gibt, bildet bei Gegenwart von F-Ionen Zirkonoxyfluorid, der rote Lack entsteht nicht, und es tritt die gelbe Farbe der Alizarinsulfonsäure auf. Doch stören eine Reihe von Anionen (Chlorid, Sulfat, Phosphat und Silikat), wenn sie in größerer Menge vorliegen, die Reaktion erheblich, indem sie ebenfalls das Zirkonreagens teilweise abbinden.

Für den vorliegenden Zweck eines qualitativen mikrochemischen Fluornachweises in rauchbeschädigten Blättern eignen sich nach unseren Versuchen die Farbmethode nach Feigl und Krumholz (1929, 1138) und die Methode der Kristallfällung als Na_2SiF_6 gut. Bei der Farbmethode nach Feigl und Krumholz wird das Fluor indirekt dadurch nachgewiesen, daß es mit Kieselsäure als SiF_4 flüchtig ist und Si im Destillat sich feststellen läßt. Etwa 10 g der lufttrockenen Pflanzensubstanz werden mit wenig 5 %iger Sodalösung angefeuchtet und vorsichtig bei nicht zu heißer Flamme verascht. Ein geringer verbleibender Kohlengehalt der Asche stört die weitere Analyse nicht. Mit reichlich der gleichen Menge reinen geglühten Quarzsandes vermischt, wird die Schmelze unter vorsichtigem Zusatz von conc. H_2SO_4 im Porzellantiegel zur Destillation angesetzt und schnell mit einem Uhrglas mit hängendem Wassertropfen bedeckt. Nach schwachem Erwärmen destilliert entstehendes SiF_4 über. Die im Destillat wieder freiwerdende Kieselsäure läßt sich infolge der leichten Reduzierbarkeit der Silicomolybdänsäure mit hoher Emfindlichkeit nachweisen. Man spült das Destillat mit wenigen Tropfen Wasser in ein Bechergläschen (Jenaer Glas, das kein Si abgibt!), säuert mit HCl oder HNO_3 schwach an, setzt 2 Tropfen einer salpetersauren Ammoniummolybdatlösung (15 g Ammoniummolybdat in 100 ccm H_2O gelöst und in 100 ccm HNO_3, $\delta = 1{,}2$,

eingegossen) zu und erhitzt bis zum beginnenden Sieden. Nach dem Abkühlen gibt man 2 Tropfen Benzidinlösung (0,25 %ig in 10 %iger Essigsäure) hinzu und versetzt mit der gleichen Menge gesättigter Natriumazetatlösung. Enthält die zu untersuchende Substanz Fluorverbindungen, so färbt sich die Lösung blau. Das überdestillierte SiF_4 hat sich mit dem Ammoniummolybdat zur Silicomolybdänsäure umgesetzt, die leicht unter Bildung des Molybdänblaues zerfällt und dabei zugleich das Benzidin oxydiert zu seiner blauen Oxydationsstufe. Die Blaufärbung muß sich mindestens mehrere Stunden halten. Manchmal fällt auch ein blauer flockiger Niederschlag aus, und die überstehende Flüssigkeit entfärbt sich größtenteils oder ganz.

Sehr wichtig ist, die zu verwendenden Reagentien jedesmal sorgfältig zu überprüfen; nach unseren Erfahrungen verändern sie sich recht leicht, besonders das Natriumazetat, und es kann dann u. U. leicht die Anwesenheit von F (bzw. Si) durch Eintritt einer Blaufärbung vorgetäuscht werden. Schon von Reckendorfer (1930, 484 und 1931, 130) ist darauf hingewiesen worden, daß die Methode nach Feigl und Krumholz sich möglicherweise zum Nachweis geringer Fluormengen in den Pflanzen eigne, die infolge einer Beräucherung aufgenommen worden seien. In seinen Versuchen fiel die Reaktion positiv aus an einem Rotklee, der mit einer 1—2 %igen Flußsäurelösung begossen war. Nachdem wir uns davon überzeugt hatten, daß gesunde unberäucherte Blätter keine Blaufärbung verursachten (s. u.), untersuchten wir mehr oder weniger beschädigte Pflanzenproben, die uns in großer Anzahl von verschiedenen Seiten aus dem Umkreis Fluor verarbeitender Betriebe zugesandt waren. In allen Fällen ergaben die von den fluorhaltigen Abgasen betroffenen Pflanzen eine deutliche Blaufärbung. Die Intensität der Blaufärbung war recht verschieden. Apfel-, Birnen- und Pflaumenblätter u. a. ergaben eine tiefdunkelblaue Farbe, während eine andere, ebenso stark beschädigte Probe Pflaumenblätter, ferner Kastanien- und Kartoffelblätter nur eine hellblaue immerhin deutliche Färbung verursachten.

Die Methode der Kristallfällung als Na_2SiF_6 haben wir in folgender Weise angewandt: Von der frischen oder lufttrockenen Pflanzensubstanz wurden etwa 3 g in einem niedrigen Glaszylinder innig mit feinem, geglühtem Quarzsand vermischt, mit etwas Glaswolle überdeckt und mit soviel conc. Schwefelsäure versetzt, daß die Masse gut durchfeuchtet wurde. Enthält die Probe Fluor, so destilliert bei schwachem Erwärmen SiF_4 in den am Deckglas hängenden Tropfen 5 %iger Natriumazetatlösung über, und es fallen Kristalle von Kieselfluornatrium, Na_2SiF_6, aus. Na_2SiF_6 kristallisiert im hexagonalen System, in Form sechseckiger Tafeln oder in Vereinigungen von Prisma und Pyramide, die massiv oder auch tafelförmig auftreten können (s. Abb. 1, vgl. a. Haushofer 1885, 98). Nicht selten erscheint die Pyramide um ihre Hauptachse um 30° gegen das

Prisma verdreht. Im übrigen kommen auch Zwillingskristalle und mehrfache Vereinigungen vor. Die Kristalle fallen in leicht saurer Lösung am schönsten aus, sind aber in saurer Lösung bei viel Wasserüberschuß löslich. Da stets H_2SO_4-Dämpfe mit überdestillieren, so macht man am besten den Reagenstropfen ursprünglich leicht alkalisch. Nach dem Erwärmen tut man gut, das Deckglas bis zum Abkühlen noch über dem Destilliergefäß liegen zu lassen, da beim langsamen Erkalten die Kristalle sich besser ausbilden. Die Reaktion trat bei allen erwähnten Proben an den Blättern und, soweit untersucht, auch an den Sprossen deutlich positiv auf, ebenso in einer Reihe weiterer, auch aus Flußsäure-Rauchgebieten stammenden Proben, unter anderem Luzerne, Melde, Brennessel, Geranium, Polygonum und Raygras. Der Vorwurf einer zu geringen Empfindlichkeit, den Reckendorfer (1931, 127) gegenüber der Na_2SiF_6-Bestimmung erhebt, besteht demnach nicht zu Recht. Vor der Molybdat-Benzidin-Farbmethode hat die Methode der Kristallfällung den Vorzug der Einfachheit — man braucht nur dann zu veraschen, wenn vermutlich nur sehr wenig Fluor aufgenommen ist und ein Anreichern geboten erscheint — und der absoluten Eindeutigkeit (s. S. 201) voraus. Auch benötigt sie weniger Material. — In jedem Falle läßt sich vorhandenes Fluor nach beiden Methoden auch noch nach Wochen nachweisen, nachdem die Blätter vollständig verdorrt sind.

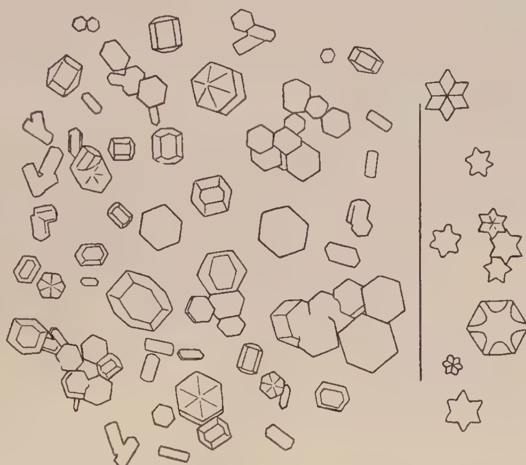


Abb. 1.
Kieselfluornatrium-Kristalle.
(Mikrodestillat aus HF-beschädigten Blättern).
Links: Häufigst vorkommende Formen.
Rechts: Selten auftretende Sternfiguren.
Etwa 500 fach.

In ähnlicher Weise bestimmten J. und R. Casares (1930, 910) den Fluorgehalt in Knochenaschen, indem sie das mit Hilfe conc. Schwefelsäure übergetriebene SiF_4 im Bariumazetattropfen auffingen und als Bariumkieselfluorid fällten. Auch diese Reaktion eignet sich zum Nachweis von Fluorrauchschäden und fiel an experimentell mit HF beräucherten Cyclamenblättern wie an Pflanzenproben aus HF-bestrichenen Rauchgebieten deutlich positiv aus. $BaSiF_6$ kristallisiert hexagonal, als Rhomboeder oder als Prisma-Rhomboeder-Kombination, gewöhnlich jedoch in einer Kümmerform der letzteren oder in wetzsteinförmigen Körpern, die auf verschiedene Weise, teils zu Drusen zusammengesetzt sein können. Alle diese Formen

lassen sich leicht und sicher von den oft gleichzeitig infolge mitdestillierter Schwefelsäure auftretenden Bariumsulfatkristallen unterscheiden, die dem rhombischen System angehören und durch den kürzeren Querbalken ihrer kreuzförmigen Kristallskelette gekennzeichnet sind. Da jedoch bei Verwendung von Natriumazetat als Fällungsmittel neben dem entstehenden Kieselfluornatrium keine wasserunlöslichen Stoffe ausfallen, so verdient die Na_2SiF_6-Fällung den Vorzug vor der $BaSiF_6$-Fällung.

Es blieb nun noch übrig, die drei wichtigen Fragen zu entscheiden, erstens ob der natürliche F-Gehalt der Blätter die Reaktionen nicht zu stören vermag, zweitens ob, wenn das nicht der Fall ist, auch durch sehr geringe F-Mengen hervorgerufene Schäden mit Hilfe genannter Reaktionen sicher nachgewiesen werden können und drittens, ob unter besonderen Umständen — auf apatitreichen oder mit fluorhaltigen Phosphaten gedüngten Böden — die Pflanzen so große Fluormengen aufnehmen, daß solche die Reaktionen ebenso ergeben wie durch F-Rauchgase geschädigte Pflanzen.

Wie erwähnt, ergaben gesunde, unberäucherte Kontrollproben, teilweise aus den gleichen Gebieten wie die F-beschädigten eingeschickt, teils aus der Umgebung Hamburgs gesammelt, die Reaktion nach Feigl und Krumholz nicht[1]. Auch nach der Methode der Kristallfällung als Na_2SiF_6 reagierten diese Kontrollproben stets negativ. Bei Untersuchung der Vergleichspflanzen nach der Farbmethode nach Feigl und Krumholz trat vereinzelt ein sehr schwacher hellblauer Schimmer in der Lösung auf, der aber im Gegensatz zu der durch die F-beräucherten Proben hervorgerufenen Blaufärbung unbeständig war und in sehr kurzer Zeit, spätestens in einigen Minuten, wieder verschwand. Abgesehen davon, daß alte Reagentien Blaufärbung hervorrufen können, und, wie erwähnt, vor jeder Analyse überprüft werden müssen, kann der schwache blaue Anflug bei der Untersuchung gesunder Blätter auf mit überdestillierte Phosphorsäure zurückgeführt werden oder aber auch auf einem verhältnismäßig hohen natürlichen Fluorgehalt beruhen. Nach Ost (1896, 169) schwankt der natürliche F-Gehalt verschiedener Blätter zwischen 0,003 bis 0,013 %. Gautier und Clausmann (1916, 107) fanden in 100 g Trockensubstanz gesunder Blätter von 1,34 mg (Kresse) über 3,00 (Spinat), 5,65 (Luzerne), 5,88 (Zichorie), 6,80 (Senf), 7,25 (Esparsette), 8,20 (Löwenzahn) bis 13,4 (Runkelrüben) und 13,87 (Sauerampfer) mg F[2]), Stoklasa (1928, 930) bei verschiedenen Pflanzen von 3,2 bis 3,8 mg, bei Zuckerrübe

[1]) Reckendorfer (1930, 484) erhielt auch an „unbehandelten" Fichtennadeln Blaufärbung nach Feigl und Krumholz. An späterer Stelle (1931, 131) vermutet er jedoch, daß bei der betreffenden Probe tatsächlich ein F-Rauchschaden vorlag.

[2]) Nach brieflicher Mitteilung von Herrn Professor Dr. Chr. Schätzlein in Neustadt a. d. Hardt war in gesunden Weinblättern aus Neustadt kein Fluor nachweisbar; in durch die Abgase eines Emaillierwerkes mittelstark geschädigten Weinblättern wurden von ihm (berechnet auf 100 g lufttrockene Blattsubstanz) 9,1 mg, in stark geschädigten abgestorbenen 17,4 mg F gefunden (nach entsprechend abgeändertem Verfahren von Olivier).

4,7 und 9 mg. Nach Feigl und Krumholz (1929, 1140) lassen sich mittels der angegebenen Methode noch 0,005 mg F nachweisen, mittels der Fällungsreaktion als Na_2SiF_6 nach eigenen Versuchen noch 0,05 mg F (aus CaF_2). Demnach müßte auch in gesunden Blättern zumindest die Farbmethode von Feigl und Krumholz positiv verlaufen. Bei unseren zahlreichen Versuchen mit gesunden Blättern der verschiedensten Pflanzenarten aus verschiedensten Gegenden trat aber nur in vereinzelten Fällen ganz schwache und vorübergehende Blaufärbung auf, in welchen Fällen der F-Gehalt etwa an der Erfassungsgrenze gelegen haben könnte; durch die Fällungsmethode ließ sich niemals F in rauchfreien Blättern nachweisen, auch nicht in den normalerweise viel F enthaltenden Sauerampferblättern (vgl. oben). Entweder läßt sich demnach Fluor nach der Methode der Glasätzung (Ost) oder der Bleiabbindung aus Flintglas (Gautier und Clausmann) in diesen kleinen Mengen nicht absolut genau bestimmen, oder aber bei der Bestimmung aus der organischen Substanz bzw. der Blattasche liegt die Erfassungsgrenze der Farb- und Fällungsmethode nicht so tief, wie sich bei der CaF_2-Prüfung ergab.

Da also der natürliche Gehalt an F bei der Fällungsmethode die Reaktion nicht stört und sie bei der Farbmethode auch nur in Ausnahmefällen unsicher macht, kann man zusammenfassend sagen: Positiver Ausfall der Fällungsreaktion läßt einen Schluß auf Fluorrauchschaden zu. Tritt bei Anwendung der Farbmethode eine deutliche, anhaltende Blaufärbung oder blaue Fällung ein (Reagentien-Kontrolle!), so kann man ebenfalls auf F-Aufnahme schließen; ist dagegen die Blaufärbung nur sehr schwach und schnell vorübergehend, so kann natürlicher F-Gehalt vorliegen, und man wird zur Entscheidung der Frage versuchen müssen, stärker beschädigtes Material eventuell auch von anderen Pflanzen und aus größerer Nähe der Rauchquelle zu erhalten.

Die zweite Frage, ob bei Ausbleiben der Reaktionen trotzdem F-Schaden vorliegen kann, ob also u. U. schon sehr geringe außerhalb der Erfassungsgrenze der Reaktionen liegende F-Mengen Schäden hervorzurufen vermögen, konnte nicht ganz einwandfrei entschieden werden. Uns lagen recht stark beschädigte Mahonienblätter vor, die aus dem Dunstkreis einer Fluor verarbeitenden Fabrik stammten, an denen beide Reaktionen negativ ausfielen, desgleichen an Funkien-, Gurken- und Fuchsienblättern der gleichen Herkunft. Allerdings mußten letztere wegen der geringen Materialmenge nach der etwas weniger empfindlichen Fällungsreaktion untersucht werden. Es muß hier die Frage offen bleiben, ob in diesem Falle vielleicht andere als F-Schäden vorlagen, oder ob die Schäden durch äußerst geringe, nicht erfaßbare F-Mengen hervorgerufen waren; nicht ausgeschlossen wäre auch, daß sie zeitlich weiter zurücklagen und aufgenommene kleine F-Mengen inzwischen durch das zunächst am Leben gebliebene Blattgewebe abgeleitet worden sind. Auch an vermutlich F-be-

schädigten Früchten (reifen Kirschen und Birnen), die wir gleichzeitig mit beschädigten, die F-Reaktionen einwandfrei zeigenden Blattproben aus denselben Rauchgebieten erhalten hatten, ließen sich mikrochemisch keine F-Verbindungen nachweisen. Diese Früchte waren, wie oben beschrieben, an ihrem unteren Ende verfärbt und knorpelig verhärtet. In den geschwärzten Scheiben um die Krone der Birnen herum ließ sich *Gloeosporium fructigenum* Berk. feststellen, ohne natürlich entscheiden zu können, ob dieses primäre Ursache des Schadens war oder erst sekundär nach einem voraufgegangenen HF-Schaden aufgetreten ist. Die gleichfalls gebräunten jungen Blätter der Kirschen ergaben deutlich, wenn auch schwach, die Fluor-Reaktion. Es muß daher wohl angenommen werden, daß das zarte Fruchtfleisch schon Spuren von Fluor zum Opfer fallen kann, die sich analytisch nicht mehr erfassen lassen. Daß Kirschfrüchte Fluor in geringeren Mengen speichern als Blätter, ist sehr wohl erklärlich, weil die Fluorgase in die wachsüberzogenen und spaltöffnungsarmen Früchte fraglos schwerer eindringen können als in die Blätter. Die auffälligen Schäden im vorliegenden Falle können auf eine zeitlich weiter zurückliegende HF-Einwirkung zurückzuführen sein, die die Früchte im jugendlichen Stadium betraf.

Zur Entscheidung der dritten Frage, ob auf apatitreichen oder mit fluorhaltigen Phosphaten gedüngten Böden die Pflanzen so große F-Mengen aufnehmen können, daß Pflanzen von solchen Böden die Reaktionen ebenso ergeben wie durch F-haltige Rauchgase geschädigte Pflanzen, wurden mehrere Versuchsreihen mit künstlich mit F angereicherten Boden- und Wasserkulturen angesetzt. Es stellte sich heraus, daß diese Gefahr nicht besteht.

Zunächst wurde eine Versuchsreihe unter Zugabe unlöslicher Fluorverbindungen zum Boden angesetzt. Jede Pflanzenart — *Zea Mays*, *Avena sativa*, *Brassica napus*, *Plantago lanceolata* und *Fagus silvatica* — erhielt die folgenden Salzgaben:

Tabelle 1.

	Auf 1 kg Topferde g	Berechnet auf 1 ha dz
1. Superphosphat (handelsüblich F-haltig)	1	zirka 6
2. " "	5	" 30
3. Marokkophosphat (3,70 °/₀ F) .	1	" 6
4. " "	10	" 60
5. Pebblephosphat (3,69 °/₀ F) .	1	" 6
6. " " .	10	" 60
7. Kalziumfluorid	5	" 30
8. "	10	" 60
9. und 10. je zwei Kontrollen .	—	—

Trotz des teilweise sehr hohen F-Gehaltes der Böden — die Phosphatgaben übertreffen normale Düngergaben bei weitem — gediehen die Kul-

turen durchweg gut. Irgendwelche Schäden, die auf die Fluorgabe zurückgeführt werden könnten, ließen sich nicht feststellen. Nach acht Wochen wurden die Pflanzen geerntet und untersucht. In sämtlichen Kulturen fiel die Reaktion nach der Fällungsmethode negativ aus. Wo genügend Material vorlag, wurden die Pflanzen zugleich nach der Farbmethode analysiert; auch nach ihr ließ sich in keinem Fall Fluor in den Proben feststellen. Zur weiteren Nachprüfung besonders der Analysen nach der Farbmethode wurden in dreifacher Wiederholung Mais und teils auch Wintergerste mit Marokkophosphat, Pebblephosphat und Kalziumfluorid behandelt, wobei außer den sonst in Gartenerde angesetzten Kulturen die gleichen Salzgaben in reinem Sand gegeben wurden. Auch in den Sandkulturen gediehen die Pflanzen unbeschadet und in keinem Falle ließ sich auch nach der sehr empfindlichen Farbmethode Fluor in den Pflanzen nachweisen. Auch aus anderen Ursachen geschwächte und kränkelnde Pflanzen — Parallelreihe mit Stowells Evergreen-Mais, der von *Fusarium moniliforme* Sheld. befallen war — hatten, obwohl ihre Lebensfunktionen gestört waren, kein Fluor aufgenommen. Diese Versuche zeigen, daß auch bei Vorhandensein größerer Mengen unlöslicher F-Verbindungen im Boden — und nur unlösliche kommen praktisch vor — die Pflanzenwurzeln keine größeren F-Mengen aufnehmen, abgesehen von den Spuren, die sich in den Pflanzenarten vorfinden, die aber, wie erwähnt, durch die besprochenen Reaktionen nicht erfaßt werden.

Nur in Ausnahmefällen wäre es denkbar, daß in einem an sich sehr sauren Boden lange Zeit darüber hinstreichende Fluorgase absorbiert, aber nicht vollständig neutralisiert würden. Eventuelle Schäden der Pflanzen durch den Boden wären praktisch selbst in solchen Fällen ohne Bedeutung, da dann die F-haltigen Gase die oberirdischen Pflanzenteile schon unmittelbar schwer geschädigt haben würden. Doch schien es wünschenswert festzustellen, ob gelöste F-Verbindungen aus dem Boden durch die Wurzeln in durch genannte Mikromethoden nachweisbarer Menge aufgenommen werden. In einer ersten Versuchsreihe wurde der Erde 1 % Natriumfluorid in Lösung beigegeben. Die in diese Erde gelegten Mais-, Raps- und Wegerichsamen liefen nicht auf, und eingepflanzte zweijährige Hainbuchen- und Kiefernbäumchen wurzelten nicht an. Nach kurzer Zeit waren die Samen im Boden verfault und die Bäume abgestorben. In den Topfuntersätzen sammelte sich aus dem Gießwasser ein dunkelroter Auszug, der — noch nach einem Monat — ebenso wie der Boden deutlich auf Fluor reagierte; demnach ist nicht alles Fluorid im Boden festgelegt worden. Gleichzeitig angesetzte Topfkultur mit Stangenbohnen, die nur 0,1 % NaF-Zusatz erhielt, gedieh unbeschadet. Nach 48 Tagen wurden die gut entwickelten Pflanzen auf Fluor untersucht: die Reaktion fiel negativ aus. Mit 0,5 % NaF-Zusatz zur Erde wurden noch einmal Mais, Raps und Bohnen angesetzt. Die Saat lief jedoch

nicht auf oder entwickelte sich nur sehr mangelhaft. Die mindeste noch schädliche NaF-Konzentration liegt demnach zwischen 0,1 und 0,5 %; da sie unsere Fragestellung nicht unmittelbar berührte, wurde sie nicht näher bestimmt.

Aus dem Ergebnis des Versuches mit Stangenbohnen scheint hervorzugehen, daß auf einem 0,1 % lösliche Fluorverbindungen enthaltenden Boden die Pflanzen ungestört gedeihen können und keine nachweisbaren F-Mengen durch die Wurzeln aufnehmen. Es ist jedoch auch möglich, daß diese geringe F-Gabe in einem normalen Boden in unlösliche Formen übergeführt wird. Wasserkulturversuche zeigten eindeutig, daß in der Tat niedrige Konzentrationen löslicher F-Verbindungen nicht schaden. Die einzelnen Kulturen erhielten 0,5, 0,1 und 0,01 % NH_4F zu gewöhnlichem Leitungswasser. Die NH_4F-Lösung, die aus HF und NH_4OH gewonnen wurde und zunächst einen schwachen NH_4-Überschuß enthielt, wurde durch Phosphorsäure neutralisiert, die zugleich dazu diente, zuvor die geringen Spuren Kalzium und evtl. Magnesium des Leitungswassers zu fällen. In den beiden stärkeren Konzentrationen mit 0,5 und 0,1 % NH_4F gingen die vorher in Sand angekeimten Bohnen- und Gerstenkeimpflanzen sofort ein, desgleichen in einer Wiederholung dieser Kulturen. In der 0,01 %igen Lösung dagegen gediehen die Pflanzen wie in den Kontrollen durchaus normal. Es sei hier auf die ähnlichen Versuche Gisigers (1931, 67 u. 65) hingewiesen, in denen Maispflanzen nach vorübergehender Behandlung mit 0,33 %iger NaF-Lösung stark geschädigt wurden, während auf Ziegelgrus wachsender Mais unbeschadet mit einer 0,2 %igen NaF-Lösung begossen werden konnte. — Die in den 0,01 %igen NH_4F-Lösungen gut entwickelten Bohnen- und Gerstenpflanzen wurden nach der empfindlichen Farbmethode auf ihren Fluorgehalt untersucht. Bei beiden Pflanzenarten blieb die Reagenslösung ebenso wie in den Kontrollen absolut farblos. Also auch in diesen Versuchen mit einwandfrei gelösten Fluorverbindungen nahmen die Pflanzen, soweit sie nicht in den Lösungen abstarben, keine mikrochemisch nachweisbaren F-Mengen durch die Wurzel auf.

In einer letzten Versuchsreihe mit Mais schließlich wurde dem Boden — Sand und Gartenerde — das lösliche Fluorsalz nach und nach zugesetzt. Nachdem der Mais etwa 3 cm hoch war, wurden den Kulturen vier Wochen lang jeden zweiten Tag NH_4F-Mengen zugefügt, die in jeweils 50 ccm destilliertem Wasser gelöst wurden (Tabelle 2).

Die Erdkulturen sollten zeigen, ob die Fluorsalze in Gartenerde rascher festgelegt würden als in reinem Sand. Um eine Fällung der F-Ionen in den Sandkulturen möglichst zu verhindern, wurden die Lösungen mit destilliertem Wasser angesetzt. Zugleich erhielten die Sandkulturen jeweilig 20 mg KH_2PO_4 und zu den NH_4F-Gaben ergänzende $(NH_4)_2SO_4$-Mengen, so daß jeweils das NH_4-Äquivalent der höchsten NH_4F-Sandkultur erreicht wurde.

Tabelle 2.

	NH_4F-Gabe in den 4 Wochen insgesamt auf 1 kg Topfsand g	Jeweilige NH_4F-Gabe mg	Prozentgehalt der Gießlösung
A. Sandkulturen: 1.	5,0	355	0,7
2.	1,0	71	0,14
3.	0,5	35,5	0,07
4.	0,1	7,1	0,014
5. und 6.	Kontrollen	—	—
B. Erdkulturen: 7.	2,5	177,5	0,35
8.	0,1	7,1	0,014
9. und 10.	Kontrollen	—	—

Schon nach der zweiten Fluorgabe begann der Mais der 5,0 g-Sandkultur sich streifig fahlgrün zu verfärben; als die Schäden am 4. Versuchstag zugenommen hatten, bekam die 5,0 g-Sandkultur keine weitere F-Gabe mehr. Allmählich starben alle 7 Maispflanzen dieses Topfes ab. In der 1,0 g-Sandkultur erschienen die ersten Beschädigungen erst am 11. Tage, indem 2 Pflanzen fahle Blattspitzen bekamen. Erst nachdem am 13. Versuchstag die 1,0 g-Sandkultur schon erheblich beschädigt war, traten die ersten Schäden in der 2,5 g-Erdkultur auf, obwohl diese die weit höhere Fluorgabe erhalten hatte. Es muß also in der Erde ein höherer Teil des Fluorsalzes gebunden worden sein als im Sand. Am 22. Versuchstag schließlich traten auch noch kleinere Schäden in der 0,5 g-Sandkultur auf. Nach 28 Tagen wurden sämtliche Kulturen nach der Molybdat-Benzidin-Farbmethode auf Fluor untersucht mit folgendem Ergebnis:

Tabelle 3.

	Farbe der Reagenslösung	Zustand der Pflanzen
5,0 g Sandkultur	deutlich blau	abgestorben, gebräunt und verdorrt
1,0 g „	kräftig blau	
0,5 g „	sehr schwach blau	stark beschädigt, aber noch grüne Teile
0,1 g „	farblos	unbeschädigt, anscheinend üppiger als Kontrollen
2,5 g Erdkultur	äußerst schwach blau	stark beschädigt, aber noch grüne Teile
0,1 g „	farblos	unbeschädigt, anscheinend üppiger als Kontrollen
Kontrollen	farblos	unbeschädigt

Der Versuch zeigt, daß die Aufnahme löslicher F-Verbindungen aus dem Boden nur bei toxisch wirkender Konzentration durch die angegebenen mikrochemischen Methoden erfaßt wird. Weder lösliche noch unlösliche Fluorsalze im Boden können demnach die mikrochemische Untersuchung von Fluorrauchschäden stören, zumal in normaler Erde praktisch größere gelöste Fluorverbindungen nicht vorkommen.

Bei der Durchführung der Untersuchung wird es sich empfehlen, zunächst nach der von uns angegebenen — einfacheren — Na_2SiF_6-Fällungsmethode zu arbeiten. Fällt sie positiv aus, so ist damit ein Fluorrauch-

schaden erwiesen. Fällt sie negativ aus und besteht trotzdem nach Art der örtlichen Verhältnisse der Verdacht auf Fluorraucheinwirkung, so ist nach der etwas empfindlicheren Molybdat-Benzidin-Farbmethode zu prüfen. Fällt diese alsdann positiv aus, ist damit u. E. gleichfalls der Beweis für einen F-Rauchschaden erbracht.

Literatur.

de Boer, J. H., Eine Farbenreaktion auf Zirkon und Fluor. Chem. Weekblad 1924, **21**, 404—405; ref. Chem. Zentralbl. 1925, **96** I, 133.

Brüning, A. und Quast, H., Zum Nachweis des Fluors in der chemisch-toxikologischen Analyse. Zeitschr. f. angew. Chemie 1931, **44**, 656—658.

Casares, J. y Casares, R., Sobre la investigacion cualitativa del Fluor en los Huesos. An. R. Soc. Españ. Fís. y Quím. 1930, **28**, 910—915; ref. Chem. Zentralbl. 1930, **101** II, 3610.

Feigl, F. und Krumholz, P., Beiträge zur analytischen Auswertung komplexchemischer und induzierter Reaktionen. Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 1929, **62** I, 1138—1142.

Gautier, A. et Clausmann, P., Recherche et dosage des plus petites quantités de fluor dans les minerais, les eaux et les tissus vivants. C. R. Acad. Sci. Paris 1912, **154**, 1469—1475.

— Détermination et dosage colorimétrique des plus faibles quantités de fluor. C. R. Acad. Sci. Paris 1912, **154**, 1670—1677.

— Contrôle de la nouvelle méthode de dosage du fluor. Caractéristique des plus faibles traces de ce corps. C. R. Acad. Sci. Paris 1912, **154**, 1753—1758.

— Le fluor dans le règne végétal. C. R. Acad. Sci. Paris 1916, **162**, 105—112.

Gisiger, L., Zur Kenntnis des Fluorions. Seine mikrochemische Bestimmung und seine Wirkung auf Pflanzen. Dissertation. Eidgen. Techn. Hochsch. Zürich 1931, 76 S.

Haushofer, K., Mikroskopische Reaktionen. Braunschweig 1885, 162 S.

Kotte, W., Rauchschäden an Steinobstfrüchten. Nachrichtenblatt f. d. Deutschen Pflanzenschutzdienst 1929, **9**, 91—92.

Neger, Über eine merkwürdige Schädigung des Obstes (Apfel) durch saure Rauchgase. Zeitschrift für Obst- und Gartenbau 1919, **45**, 177—179.

Olivier, Et., Bestimmung kleiner Fluormengen, besonders in Blenden und anderen Erzen. Publ. Congr. Ingén. A. I. Lg. 1922; rf. Ztschr. analyt. Chem. 1923, **62**, 293—302.

Ost, H., Untersuchung von Rauchschäden. Chem. Ztg. 1896, **20**, 165—171.

Reckendorfer, P., Das Fluor und seine Beziehung zur Pflanze. Fortschr. d. Landw., 1930, **5**, 481—484.

— Über den Nachweis von Fluor in Pflanzen- und Bodenproben. Mikrochemie 1931, N. F. **3**, 126—131.

Stoklasa, J., Biochemische Methoden auf dem Gebiete der Pflanzenhygiene. Handb. d. biolog. Arbeitsmethoden 1928, Abt. XI, Teil 3, 865—986.

Tempel, W., Flußsäureschäden an Kirschfrüchten. Die kranke Pflanze 1929, **6**, 213—214.

Wislicenus, H., Experimentelle Rauchschäden. Sammlg. v. Abhdlg. über Abgase und Rauchschäden. Berlin 1914, Heft 10, 168 S.

Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel von Kalimangelpflanzen.

Ein Beitrag zur Kenntnis der physiologischen Rolle des Kaliums in der Pflanze.

Von

Karl Schmalfuss, Marburg-Lahn.

Mit 3 Textabbildungen.

A. Einleitung.

I. Allgemeines.

In einer vorläufigen Mitteilung (1931) habe ich bereits das Problem umrissen, sowie allgemein und kurz zusammenfassend über einige Versuche berichtet, die von mir über den Eiweißstoffwechsel von Kalimangelpflanzen ausgeführt wurden.

Seitdem wir wissen, welche Elemente normalerweise den Körper einer Pflanze zusammensetzen und welche, was sich vielfach damit deckt, zum Gesamtgetriebe von deren Stoff- und Energiewechsel nötig sind, besteht auch die Frage nach der spezifischen Bedeutung der einzelnen als unentbehrlich gefundenen Elemente.

Zwei Wege sind der Forschung in dieser Beziehung zu gehen möglich: Einmal kann man nach den im Stoffwechselprozeß in den Geweben der Pflanze gebildeten chemischen Körpern oder Verbindungen suchen, die das betreffende Element enthalten; oder man forscht, wo der erste Weg methodisch versagt oder zu unbefriedigenden Ergebnissen führt, in anderer Richtung nach den Zuständen der Pflanze in physiologischer, anatomischer und morphologischer Hinsicht, die mit dem Vorhandensein eines Elementes (Ions) verknüpft oder durch dessen Mangel bedingt sind, um so gewisse Schlüsse auf dessen spezifische Rolle ziehen zu können. Dieser Weg ist naturgemäß schwieriger. Und so blieb auch bis heute manches, vor allem vielfach die Rolle der für die Pflanze unentbehrlichen Metalle dunkel, deren Studium die Forschung seit jeher in besonderem Maße beschäftigt hat.

Wie ich bereits in der oben erwähnten Mitteilung angedeutet habe, ist von diesen das Kalium der Menge nach das wichtigste und absolut unentbehrlich für die Ernährung der Pflanze. Gleichwohl ist seine physiologische Bedeutung bis heute trotz einer Unzahl von Untersuchungen mit am ungeklärtesten geblieben. Seine Rolle ist nach allgemeiner Erfahrung spezifisch; es ist nicht oder nur sehr unvollkommen durch ein verwandtes Element in den Salzen des Nährbodens vertretbar.

II. Bisherige Untersuchungen.

Sowohl die Pflanzenphysiologie wie die Agrikulturchemie haben sich seit langem eingehend mit unserem Problem beschäftigt. Ich will darum hier nicht eine historische Übersicht geben, sondern eine methodische Zusammenstellung der wichtigsten Forschungsergebnisse, die zu einer Klärung der zu untersuchenden Frage beitragen können.

a) Das Kalium in der normalen Pflanze.

Bezüglich seines Vorkommens ist zu sagen, daß sämtliche Pflanzen Kalium enthalten (vgl. Wolff, Czapek, Boresch). Weevers konnte es zwar bei Cyanophyceen und in Pollenkörnern und Pollenschläuchen einiger Monokotylen nicht nachweisen; aber das schließt nicht aus, daß es nicht auch hier vorhanden ist. Bei Cyanophyceen hat es Lloyd übrigens später auch finden können.

Zur Untersuchung der Frage, in welcher Form das Kalium in pflanzlichen Zellen und Geweben vorliegt, haben Kostytschew und Eliasberg Laubblätter, Knospen, Pilzmyzelien auf die Form der in ihnen enthaltenen K-Verbindungen geprüft. Sie fanden, daß in dem von ihnen untersuchten Material sämtliches K durch kaltes Wasser extrahiert werden konnte. Das gleiche hatte auch schon Weevers festgestellt. Nicht elektrolytisch dissoziierbare organische K-Verbindungen der hochmolekularen Stoffe in Pflanzen konnten sie nicht feststellen, was natürlich nicht die Möglichkeit einer Bildung von dissoziierbaren K-Salzen der Eiweißkörper ausschließt. Demnach scheint in der Pflanze sämtliches K in Form von Ionen vorhanden zu sein, wodurch dieses von dem Verhalten der übrigen Metalle abweicht, die wenigstens teilweise in organischer Bindung vorliegen.

Die Lokalisation des K-Ions in der Pflanze wurde mikrochemisch mit Hilfe von Fällungsreaktionen auf $K^{\cdot}$ (Kobaltnatriumnexanitrit, Chloroplatinat) des öfteren untersucht. In der Parenchymzelle wird es übereinstimmend festgestellt in der Vakuole und im Zytoplasma (Weevers, Lloyd, Penston); als K-frei werden Zellkern und Plastiden angegeben. Nur Penston konnte es als Kobaltnitritniederschlag um die Chloroplasten sichtbar machen. Stoklasa gibt es auch für die Plastiden an. Zweifellos werden wir auch annehmen dürfen, daß das Ion sowohl in Kern und Plastiden, wie auch in der Zellwand (vgl. Hansteen-Cranner) vorhanden ist, nur ist der Fällungsnachweis hier nicht so leicht zu führen.

Von einzelnen Geweben und Organen sind besonders K-reich die Vegetationspunkte von Sproß und Wurzel, Kambiumzellen, Perizykel; weiterhin die Blätter höherer Pflanzen, hier besonders Palisaden und Schließzellen (Weevers, Lloyd, Dowding, Penston). Angereichert findet sich das Ion ferner in Markstrahlen und im Siebteil der Leitbündel.

In Pflanzenorganen verschiedenen Alters ist auch der K-Gehalt verschieden. Sehr groß ist er vor allem in jungen plasmareichen Geweben (Penston), in Embryonen, Keimpflanzen, jungen Blättern. Aus alten Blättern wandert es leicht aus und strömt vermöge seiner leichten Diffusibilität jüngeren Organen zu.

b) Kalimangelpflanzen.

Morphologische Kennzeichen.

Des öftern eingehender geschildert von landwirtschaftlicher Seite (Wilfarth und Wimmer [1903], vgl. Abb. 23 nach Nobbe aus Benecke [1924], auch Smith und Butler, Jegorow). Die Blätter von Kulturpflanzen zeigen ein charakteristisches Verhalten. Sie krümmen und rollen sich, bekommen trockene Flecken, besonders von der Spitze her (Gramineen) und vertrocknen schließlich (vgl. auch die Abbildungen bei Krüger und

Wimmer, Lundegårdh, Tafel IV). Für Kalimangelpflanzen kennzeichnend ist ihr kümmerndes Wachstum, ihre Schlaffheit (vgl. Schaffnit und Volk, 1928, besonders charakteristisch Abb. 3 und 6) und mangelnde Halmfestigkeit (Getreide), geringe Widerstandsfähigkeit gegen Parasiten und leichte Neigung zur Fäulnis an Wurzeln und Knollen. Gleiche Erscheinungen werden bei N-Überschuß in der Ernährung beobachtet. Ein sehr charakteristisches Verhalten zeigen die Wurzeln der Pflanzen gegenüber verschiedenen Metallionen in der Nährlösung, worauf besonders Hansteen-Cranner aufmerksam machte. In K-Lösungen zeigten Getreidepflänzchen in der Regel keine Wurzelhaare, bei schwacher Konzentration normale feine Wurzeln mit reichlichen Seitenwurzeln, in Ca-Lösungen dagegen solche mit vielen und großen Wurzelhaaren.

Anatomische Merkmale.

Anatomische Besonderheiten bei K-Mangel lassen sich, von Einzelheiten abgesehen, nur schwer feststellen. Die individuellen Unterschiede der einzelnen Pflanzen und Organe fallen dabei ins Gewicht. Hier sind die Untersuchungen von Volk und Tiemann, Wießmann, Kisser und besonders Tobler zu erwähnen. Die Zellgröße in verschiedenen Geweben scheint gegenüber normalen Pflanzen bei K-Mangel kaum verändert. Nur für die einzelnen Gewebearten selbst werden bezüglich des Umfanges und des Grades ihrer Ausbildung einige Verschiedenheiten angegeben (Volk und Tiemann, Hartt). Besonders sollen das sekundäre Holz, das Phloem und die mechanischen Elemente betroffen sein. Auch hier zeigen Kalimangelpflanzen meist die Merkmale von solchen mit N-Überschuß. Eingehende Untersuchungen über die Wirkung des Kaliums auf die Ausbildung der Bastfaser von Flachs und Hanf liegen von Tobler vor. Er fand, daß bei K-Zufuhr die Faserwände stärker quellen und das Wasser in ihnen stärker festgehalten wird. Bei gleichzeitiger Dickenzunahme der Wand wird so ein starker Druck auf die benachbarten Elemente ausgeübt, so daß sich ein geschlosseneres Gefüge der Fasergruppen ergibt. Dieses sowie der größere Wasserreichtum der Zellwand, der der Faser größere Weichheit verleiht, bedingen eine stärkere Festigung (Halmfestigkeit) für die Pflanze und machen die technische Faser wertvoller. Ca-Gaben bewirken, daß die Faser wasserärmer und spröder wird

Schließlich sei hier auch noch erwähnt, daß Reed u. a. Mitosen bei verschiedenen Pflanzen nur bei einer hinreichenden Menge K im Nährboden feststellen konnte.

Physiologische Eigentümlichkeiten.

Das Kalium und der Wasserhaushalt der Pflanze. Am eindeutigsten wird in der Literatur immer wieder festgestellt und betont, daß eine bestimmte und exakte Beziehung der Mineralsalzernährung zum Wasserhaushalt der Pflanze bestünde. Hier sind es hauptsächlich die Kalium- und die Kalziumsalze, die wegen ihrer gegensätzlichen Wirkung am meisten hervortreten. De Vries spricht sich dafür aus, daß das K, da es besonders reich in jungen Organen höherer Pflanzen, in Pilzen usw. angehäuft sei, eine fundamentale Bedeutung für die Erhaltung der Turgeszenz besäße. Im Alter würde es dann durch die schwächere Base Ca verdrängt, das für den Turgor gar keine Bedeutung hat. Reed (1910), der die Einwirkung verschiedener in der Nährlösung gebotener Salze auf die Transpiration von Weizenpflanzen untersuchte, fand, daß das K, ohne Rücksicht auf das Anion, an das es gebunden ist, die Transpiration hemmt, Ca-Salze sie dagegen steigern. Beides ist also eine spezifische Ionenwirkung. Aus der gleichen Zeit stammen die sehr eingehenden Versuche Hansteen-Cranners. Er fand wie Reed, daß Ca-Salze die Transpiration der Pflanzen erhöhen, K-Salze sie aber vermindern. Gleichzeitig aber wird durch Ca-Salze bei K-Mangel die Wasseraufnahme der Pflanze durch die Wurzeln erschwert, während K-Ionen die Wasserzufuhr befördern. K und Ca wirken also gegensätzlich auf den Komplex Wasserhaushalt. Weitere Untersuchungen liegen aus jüngerer Zeit von Kisser vor. Etwa 14 Tage alte auf Knopscher Nährlösung gezogene Weizenpflanzen wurden in reine Salz-

lösungen (Nitrate) verschiedener Konzentration übertragen, worin sie etwa 10 Tage verblieben (Kontrolle in dest. H_2O). Verfasser fand für $Ca(NO_3)_2$ (Dest. $H_2O = 1$) das Verhältnis Sproßmasse : Wurzelmasse (Frischgewicht) < 1, für KNO_3 und $NaNO_3 > 1$. Die Wasserabgabe von 1 g Sproßmasse (Dest. $H_2O = 100$) war für $Ca(NO_3)_2 > 100$, für KNO_3 und $NaNO_3 < 100$. Die Wasseraufnahme von 1 g Wurzelmasse war für $Ca(ON_3)_2 < 100$, für $KNO_3 > 100$, für $NaNO_3 < 100$. Dies wäre also im Wesentlichen eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Hansteen-Cranner. Auch James findet eine bestimmte Beziehung zwischen dem K- und dem Wassergehalt bei Kartoffeln im Laufe einer Vegetationsperiode.

In diesem Zusammenhang sind auch noch die Befunde verschiedener Forscher über den Trockensubstanzgehalt der Kalimangelpflanzen zu nennen. Übereinstimmend wird für diese prozentual höhere Trockensubstanz angegeben (Burrell, Janssen und Bartholomew, Hartt, Schaffnit und Lüdtke). Mit anderen Worten, kalimangelnde höhere Pflanzen besitzen geringeren Wassergehalt als voll ernährte.

Das Kalium und der Mineralstoffwechsel. Eine einigermaßen klare Beziehung des K zu den übrigen Mineralstoffen wird nur für das Ca öfter erwähnt. Das Ca übt im Stoffwechsel eine dem K gegenläufige, „antagonistische“ Wirkung aus, die lange bekannt ist (Nobbe, de Vries, Loeb, Hoeber u. a.). Bei Besprechung des Wasserhaushalts wurde auch bereits darauf hingewiesen. Bei vorsichtigem Vergleich läßt sich dieser „Antagonismus“ auch aus den Aschenanalysen von Wolff (I. Teil, V, S. 173—176) entnehmen; in dieser Tabelle tritt in Pflanzenaschen in der Regel einem geringeren Gehalt an K ein größerer an Ca gegenüber und umgekehrt. Dasselbe zeigt auch das Analysenergebnis von Tucker und Tollens an Platanenblättern verschiedenen Alters (Boresch, S. 228, Tabelle 47). Ehrenberg versuchte die Tatsache, daß durch eine starke Kalkdüngung die Kaliaufnahme bei Kulturpflanzen zurückgedrängt wird und umgekehrt, durch sein Kalk-Kali-Gesetz auszudrücken.

Kalium und Kohlehydratstoffwechsel. Vielfach ist eine direkte oder indirekte Beteiligung des K-Ions bei der Photosynthese und der Bildung und Umsetzung der Kohlehydrate angenommen worden (Nobbe, Mittelstaedt u. a., besonders Stoklasa). Die Meinung, daß dem K eine hauptsächliche Bedeutung bei der Bildung der Kohlehydrate in der Pflanze zukomme, ist bis heute in der landwirtschaftlichen Literatur am häufigsten vertreten. — Die Intensität der Photosynthese von Phaseolus bei K-Mangel fand Briggs wenig oder überhaupt nicht gehemmt. Ebenso fand neuerdings Lundegårdh an kalimangelndem Hafer keine bemerkenswerten Unterschiede in der Kohlensäureassimilation. Nach Gregory und Richards war bei kalimangelnder Gerste die Assimilation unternormal, die Atmung übernormal bei geringer wie bei hoher Lichtintensität. Nach den neueren Untersuchungen von Gaßner und Goeze zeigen Weizenblätter bei Kalimangel eine Erhöhung der Assimilationsgröße. Häufig wurde das Verhalten der Stärke bei Kalimangel studiert. Schon Nobbe und Mitarbeiter beobachteten an Buchweizenblättern, daß bei Kalimangel die Stärke aus den Chloroplasten schwand. Sie deuteten den Befund so, daß ohne Kalisalze in der Pflanze keine Stärke gebildet werden, die Pflanze also nicht assimilieren könne und infolgedessen das Wachstum sistiert wird. Ähnlich äußert sich Schimper, wenn er auch die letztgenannte Schlußfolgerung bezweifelt. Weitere Arbeiten liegen vor von Wilfarth und Wimmer, Lüpke u. a. Stoklasa, Szolnoki, Jakob suchen die radioaktiven und lichtelektrischen Eigenschaften des Kaliums mit der Bildung der Kohlehydrate in Verbindung zu bringen. An neueren Untersuchungen sind die von Janssen und Bartholomew und die von Nightingale und Mitarbeitern zu erwähnen, die kalimangelnde Tomatenpflanzen analysierten, und die Arbeit von Hartt mit Zuckerrohr. Sie fanden alle an K-Mangelpflanzen erhöhten Prozentgehalt an Kohlehydraten. Weiter konnte Hartt bei K-Mangel größere Diastaseaktivität in allen Organen des Sprosses feststellen. In gleicher Weise fanden Doby und Hibbard und

Doby und Kertész in Blättern kalimangelnder Zuckerrüben wie bei K-frei gezogenem Penicillium starke Erhöhung der Saccharaseaktivität.

Kalium und Eiweißstoffwechsel. Schon Pfeffer deutet an (S. 417 ff.), daß das K am Aufbau des Protoplasten beteiligt sein könne. Weevers vertritt in seiner schon genannten Arbeit die Ansicht, daß es für den Aufbau der Eiweißstoffe in der Pflanze erforderlich sei. Auch Penston meint, daß das gekoppelte Vorkommen von K und Proteinen in jungen Geweben dahin deutet, daß das K einen Faktor bei der Eiweißbildung darstellt, wohl durch einen aktivierenden Einfluß auf die Bildung proteolytischer Enzyme. Andere Forscher, die kalimangelnde höhere Pflanzen auf Stickstoff analysierten, fanden bei diesen in der Regel auf Frischgewicht oder Trockengewicht bezogen, erhöhten N-Gehalt gegenüber voll ernährten (Burrell, Janssen und Bartholomew, Nightingale und Mitarbeiter, Mevius und Dikussar und besonders auch die jüngsten Ergebnisse von Schaffnit und Lüdtke). Bei ausreichender K-Ernährung ist hoher Prozentgehalt an K mit niedrigem an N verbunden, und umgekehrt ruft unzureichende K-Ernährung hohen N-Gehalt hervor. Besonders häuft sich bei K-Mangel der lösliche N in der Pflanze sehr stark an.

III. Zur Aufnahme der eigenen Arbeit.

In den im folgenden zu schildernden Untersuchungen ist versucht worden, experimentell eingehender den Zusammenhängen nachzugehen, die zwischen dem Stickstoffwechsel der Pflanze und von den Mineralstoffen dem Kalium bestehen. Leitend war ursprünglich der Gedanke, daß eine wahrscheinliche Beziehung des Kaliums zum Eiweiß bestünde, was mehrfach geäußert worden war (Pfeffer, Jost, Benecke u. a.). Da aber im Laufe des Arbeitens sich allgemeinere Zusammenhänge herausstellten, mußte auch das ganze Problem von einem etwas erweiterten und allgemeineren Gesichtspunkt aus hier behandelt werden, worauf schon bei Besprechung der vorliegenden Literatur Bedacht genommen worden war.

B. Eigene Versuche.

I. Methodisches.

Für die Aufzucht des Versuchsmaterials ergab sich die übliche Methode der Mangelkultur, wobei aus dem betreffenden Salz im Nährstoffgemisch das zu untersuchende Element weggelassen und durch ein verwandtes ersetzt wird. Es scheint mir noch wichtig, darauf hinzuweisen, daß sich die physiologische Bedeutung eines Stoffes, bzw. die Veränderung, die sein Mangel im Organismus hervorruft, für unsere Frage kaum isoliert prüfen läßt, sondern nur relativ zu den übrigen Komponenten des vollen Nährstoffgemisches. Dabei treten ganz bestimmte gegensätzliche Wirkungen der einzelnen Ionen hervor, die man als physiologischen Ionenantagonismus bezeichnet hat (Loeb, Hoeber, Rubinstein). So wird sich beim Mangel des einen der überwiegende und dann meist schädliche Einfluß des Antagonisten geltend machen, der sich gewöhnlich herabsetzend auf den Aufbau organischer Substanz schlechthin auswirkt. Ihren allgemeinen biologischen Ausdruck fand diese Beobachtung schon frühzeitig im Liebigschen „Gesetz des Minimums“ oder

der Lehre vom „limiting factor“ Blackmans. Dem K gegenüber nimmt hauptsächlich das Ca diese Stellung des Antagonisten ein. Mit dem Angeführten soll nur betont sein, daß die spezifische Wirkung des K im Stoffwechsel nur in physiologisch ausgeglichenen Ionengemischen zu untersuchen zweckmäßig ist.

Gearbeitet wurde hauptsächlich mit *Avena sativa* (Petkuser Gelbhafer); weiterhin *Sinapis alba* und *Tradescantia lackenensis*. Angeschlossen wurde eine Versuchsreihe mit ***Aspergillus niger***.

Die höheren Pflanzen wurden meist in Sandkultur gezogen. Gewöhnliche, etwa 2,3 kg lufttrockenen Sand fassende Blumentöpfe wurden sorgfältig gewaschen, getrocknet, mit Paraffin getränkt und die Innenseite noch besonders mit einer Schicht Paraffin überzogen. Die Gefäße wurden sodann mit gleichen Mengen reinen, nährstofffreien Quarzsandes gefüllt und fanden in der Kaltabteilung des Versuchshauses Aufstellung, das der Besonnung hauptsächlich von der Südseite her ausgesetzt ist. Die einzelnen Salze wurden dem Sand in gelöster Form, die schwer löslichen als feine Aufschwemmung zugegeben und zwar in dem relativen Mengenverhältnis der verwendeten Nährstoffgemische oder Nährlösungen. Die Salze waren reinste Präparate von Kahlbaum oder Merck.

Die Menge an Nährstoffen wurde so gewählt, daß die Gesamtmenge an gebotenem Reinstickstoff jeweils 180 mg je Gefäß betrug. Nach der N-Gabe richtete sich dann die Menge aller anderen Komponenten des verwendeten Nährsalzgemisches. Von einer Staffelung der einzelnen Gaben, z. B. des N oder des K, wurde abgesehen. Wurde das K aus einer Nährlösung fortgelassen, so wurde es stets durch äquivalente Mengen von Na (— K + Na) oder von Ca (— K — Na) mit demselben Anion ersetzt. Zu jeder Mangelkultur wurde selbstverständlich jeweils eine unter denselben äußeren Bedingungen gezogene Vollkultur als Kontrolle mit verarbeitet.

Verwendet wurden für Vegetationsversuche bereits erprobte, „balanzierte“ Lösungen, und zwar hauptsächlich das Nährsalzgemisch nach Th. Pfeiffer und das nach v. d. Crone. Für die Wahl dieser beiden waren die Form des N- und die des K-Salzes maßgebend.

Nach Th. Pfeiffer:	Nach v. d. Crone:
4,0 g NH_4NO_3	2,5 g $CaSO_4 + 2\,H_2O$
6,5 g $CaHPO_4 + 2\,H_2O$	2,5 g $MgSO_4 + 7\,H_2O$
3,0 g $CaCO_3$	1,25 g $Ca_3(PO_4)_2$
2,0 g $MgSO_4 + 7\,H_2O$	1,25 g $Fe_3(PO_4)_2 + 8\,H_2O$
0,5 g NaCl	5,0 g KNO_3
0,1 g $Fe_2(SO_4)_3$	
8,3 g K_2SO_4	

Die Pflanzen (Hafer) wurden aus möglichst gleichartigem, sorgfältig ausgewähltem Saatgut in den Kulturgefäßen selbst herangezogen und nach dem Auflaufen auf eine bestimmte Anzahl (18) je Topf verzogen. Gegossen wurde jeden Abend bis zur annähernd vollen Wasserkapazität des Sandes mit destilliertem Wasser, möglichst ohne die Pflanzen zu benetzen. Ein weiterer Zusatz von Nährsalzen während des Wachstums außer den vor der Aussaat der Pflanzen gegebenen wurde nicht verabreicht. Die Pflanzen mußten also für die Dauer ihres Wachstums mit dem im Nährgewebe der Frucht bzw. des Samens enthaltenen K auskommen. Die Kulturdauer betrug bei Hafer meist drei bis vier Wochen; das Versuchsmaterial wurde, um Fehler zu vermeiden, spätestens nach Eintritt der ersten Schädigungserscheinungen der Mangelpflanzen geerntet.

Die Ernte wurde jeweils am Morgen nach einem sonnigen Tage vorgenommen bei annähernd 100 % rel. Feuchtigkeit der Luft im Versuchshaus. Die Haferpflanzen wurden dicht an der Fruchthülle, jedoch stets oberhalb des Vegetationspunktes, abgeschnitten und als Ganzes, also Blätter mit Scheiden, verarbeitet. Die verwendete Menge Frischsubstanz

schwankte in den einzelnen Versuchen je nach der Kultur und der Anzahl der Gefäße zwischen 2 bis 15 g, betrug meist 6 bis 8 g. Das Frischgewicht wurde jeweils auf 0,01 g, wo die Trockensubstanz bestimmt wurde, das Trockengewicht auf 0,001 g genau gewogen. Nach der möglichst beschleunigten Ermittelung des Frischgewichts wurde das Pflanzenmaterial zu den Analysen weiter verarbeitet.

Dabei wurde im wesentlichen nach Mothes (1926) verfahren, wie auch für Bestimmung der einzelnen N-Fraktionen die dort beschriebene Apparatur benutzt wurde. Nur besaßen die hier verwendeten Destillationsapparate nach Pregl kein Silberrohr, sondern solche aus Jenaer Glas, die sich aber bei hinreichender Sorgfalt in gleicher Weise sehr gut bewährten. Die Fällung der Eiweißstoffe wurde mit nur 1 %iger Tanninlösung in 0,1 % H_2SO_4 (Engel) heiß vorgenommen; durch Probeversuche hatte sich vollkommene Übereinstimmung mit der Wirkung 4 %igen Tannins (Mothes) ergeben.

Als Bezugsgröße wurde (vgl. Chibnall, Mothes, Gouwentak) ursprünglich allein das Frischgewicht gewählt. In der Folge wurden auch Trockengewicht und in einem Fall die Blattfläche in Betracht gezogen. Ermittelt wurden der durch Tannin fällbare N (= Eiweiß-N) nach Kjeldahl, der lösliche N nach Kjeldahl, der Amid-N nach Sachsse und der NH_3-N durch Destillation mit Magnesia im Vakuum bei 40° C. Auf eine Bestimmung des Aminosäurenstickstoffs wurde verzichtet, da der nach Abzug des Amid- und Ammoniak-N verbleibende restliche lösliche N als zum weitaus überwiegenden Teile aus Aminosäuren (vgl. Mothes) bestehend angesprochen werden kann. Der überdestillierende Ammoniak wurde in gewöhnlich n/50 H_2SO_4 aufgefangen; zurücktitriert wurde mit NaOH mit Methylrot als Indikator. Jeder in den Tabellen erscheinende Wert des Eiweiß- und des löslichen N wurde stets durch 2 Bestimmungen ermittelt. Der Gesamt-N ist dabei errechnet. Wo von einem Teil des Pflanzenmaterials das Trockengewicht bestimmt wurde, wurde hievon der Gesamt-N zur Kontrolle als Ganzes in der Regel ebenfalls bestimmt.

Auf eine Bestimmung der $H^{\cdot}$-Konzentration im Kulturmedium der Pflanzen wurde aus verschiedenen Erwägungen verzichtet. Sonstige spezielle Angaben werden bei Schilderung der einzelnen Versuche selbst angeführt.

II. Schilderung der einzelnen Versuche.

a) *Avena sativa.*

Der Vorzüge des Arbeitens mit Hafer sind mehrere. Die im Nährgewebe der Frucht enthaltenen Salze (das K) reichen gerade aus, in der hier benützten Zeitdauer bei K-freier Kultur noch sehr brauchbares Pflanzenmaterial zu bekommen. Der Hafer ist raschwüchsig und läßt sich in Sand- und Wasserkultur gut ziehen und ist auch gegen Reaktionsverschiebungen im Nährmedium nicht so sehr empfindlich. Endlich bietet das zur Verarbeitung gelangende junge Sproßmaterial eine sehr einheitliche Gewebemasse, die ausschließlich aus Blättern und Blattscheiden besteht.

1. Versuch.

Sandkultur, je Gefäß 18 Pflanzen. Nährstoffgemisch nach Pfeiffer (+K, −K+Na). Aussaat 28. Februar 1931. Temperatur während des Wachstums 10—28° C, rel. Feuchtigkeit meist 90—100, in den Mittagsstunden bei Sonne minimal 60 %. Haus nach Tunlichkeit gelüftet, bei praller Sonne beschattet. Nach der Aussaat herrschte anfangs trübes Wetter, vom 12.—20. März Sonne, hernach abwechselnd meist heiter. Geerntet wurden dreimal in aufeinanderfolgenden Zeitabschnitten von 3 Gefäßen einer Reihe jedesmal je 6 Pflanzen.

Bei diesem Versuch war der Amid-N nicht ermittelt worden, dafür der NH_3—N aus je zwei Parallelbestimmungen. In den folgenden Versuchen wurden diese beiden Frak-

tionen durch je nur eine Bestimmung gefunden, während zur Ermittlung von Eiweiß- und löslichem N nach wie vor stets je 2 Parallelanalysen dienten.

Tabelle 1.
N in ‰ des Frischgewichts, in % des Gesamt-N, in mg je Pflanze (Durchschnittswert). Aussaat 28. Februar 1931.

Erntezeit		Durchschnittsgewicht der Pflanze g	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	NH_3-N	Bemerkungen
20. März 9 Uhr	+K	0,249	5,11 100,00 1,274	4,58 89,62 1,142	0,53 10,38 0,132	0,05 0,98 0,012	Drittes Blatt im Entrollen, das erste an der Spitze etwas vergilbt.
	—K+Na	0,186	6,51 100,00 1,207	5,27 81,00 0,978	1,24 19,00 0,229	0,25 3,86 0,047	Zwei Blätter, das erste von der Spitze stark vergilbt.
24. März 9 Uhr	+K	0,350	4,59 100,00 1,604	4,12 89,82 1,441	0,47 10,18 0,163	0,04 0,78 0,012	Drei Blätter, das zweite von der Spitze her etwas angewelkt, sonst wie vor.
	—K+Na	0,212	6,40 100,00 1,356	5,04 78,77 1,068	1,36 21,23 0,288	0,26 4,13 0,056	Drei Blätter.
28. März 9 Uhr	+K	0,446	4,11 100,00 1,834	3,65 88,76 1,628	0,46 11,24 0,206	0,04 0,85 0,016	Vier Blätter, sonst wie vor, Vergilbung stärker.
	—K+Na	0,273	6,55 100,00 1,785	4,98 76,03 1,357	1,57 23,97 0,428	0,22 3,31 0,059	Vier Blätter.

Vor Besprechung der Ergebnisse dieses Versuches möchte ich erst noch den nächstfolgenden anführen.

2. Versuch.

Kultur und Nährstoffgemisch wie Versuch 1, (+K, —K+Na). Aussaat 15. April 1931. Geerntet 2mal. Witterung: Bis 30. April trüb, dann meist Sonne bis 5. Mai, bis 8. trüb und hierauf Sonne bis 12. Mai. Temperatur und Luftfeuchtigkeit im Mittel wie bei Versuch 1. Verarbeitet wurden jeweils die 18 Pflanzen eines Versuchsgefäßes einer Reihe. Sämtliche Pflanzen guttierten regelmäßig jeden Morgen bis zur Ernte.

Bei Betrachtung von Tabelle 1 und 2 treten folgende bemerkenswerte Tatsachen hervor:

Die Kalimangelpflanzen zeigen ein geringeres Gewicht, d. h. geringeres Wachstum unter gleichen äußeren Bedingungen gegenüber denen in komplettem Nährsalzgemisch. Das Gewicht der —K—Na-Pflanzen ist geringer als das der —K+Na ernährten. Das äußere Aussehen der voll ernährten Pflanzen war frisch, normal grün und gesund. Die Mangelpflanzen machten, mit zunehmendem Alter stärker, einen meist graugrünen, etwas schlaffen und welken Eindruck. Am stärksten waren diese

Tabelle 2.
N in ‰ des Frischgewichts, in % des Gesamt-N.
Aussaat 15. April 1931.

Ernte		Durchschnittsgewicht der Pflanze g	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N	NH_3-N	2 × Amid-N	Rest-N	Bemerkungen
6. Mai 7 Uhr	+K	0,360	4,08 100,00	3,57 87,51	0,51 12,49	0,02 0,48	0,08 1,90	0,41 10,11	Drei Blätter.
	—K+Na	0,280	4,65 100,00	4,04 86,88	0,61 13,12	0,06 1,31	0,09 1,87	0,46 9,94	Zwei bis drei Blätter.
	—K—Na	0,111	7,46 100,00	5,22 69,95	2,24 30,05	0,62 8,26	0,62 8,26	1,01 13,52	Zwei Blätter, Pflanzen sehr kümmerlich.
13. Mai 7 Uhr	+K	0,815	3,57 100,00	3,13 87,80	0,44 12,20	0,02 0,45	0,01 0,39	0,41 11,37	Vier Blätter.
	—K+Na	0,392	4,85 100,00	3,63 74,89	1,22 25,11	0,15 3,12	— —	(1,07) (21,99)	Drei bis vier Blätter, Spitzen d. unteren braun.

Symptome bei der —K—Na-Kultur ausgeprägt (Tabelle 2); diese betreffende Versuchsreihe wurde zur zweiten Ernte wegen zu starker Schädigung nicht mehr verwendet.

Der Gesamtstickstoffgehalt der Kalimangelpflanzen ist auf Frischgewicht bezogen durchweg größer als der der voll ernährten; während jener mit zunehmendem Alter je Einheit der Frischmasse etwa gleichen Wert behält, sinkt dieser fortlaufend. Infolgedessen nimmt die Differenz zwischen den Werten beider Reihen mit zunehmendem Alter auch zu. Der Gesamt-N bei —K—Na ist beträchtlich höher als bei —K+Na (Tabelle 2).

Der erhöhte Wert für den Gesamt-N der Mangelpflanzen rührt sowohl von dem erhöhten löslichen N wie dem erhöhten Eiweiß-N her. — Doch zeigen die relativen Zahlen, daß der lösliche N an dieser Gesamt-N-Erhöhung stärker beteiligt ist, und zwar mit zunehmendem Alter der Versuchspflanzen stärker. Im allgemeinen zeigen die Mangelpflanzen prozentual geringeren Gehalt an Eiweiß-N als die voll ernährten. Bemerkenswert erscheint im löslichen Stickstoff der Mangelpflanzen der durchgehend beträchtlich erhöhte Wert des NH_3-N und auch des Amid-N (Tabelle 2).

In Tabelle 1 wurden neben den Analysenwerten, die sich auf Frischgewicht beziehen, noch die absoluten Werte für die N-Menge der einzelnen Pflanze gesetzt. Die Zahlen zeigen, daß der Gesamtertrag an N-haltiger Substanz bei K-Mangel geringer ist infolge des bedeutend niedrigeren Eiweißertrags, während die löslichen N-haltigen Substanzen absolut stets eine Vermehrung zeigen.

Kurz zusammengefaßt, das Wesentlichste an den geschilderten Versuchen ist, daß K-mangelnde Haferpflanzen (Blätter) je Einheit ihres

Frischgewichts erhöhten Stickstoffgehalt aufweisen, weiterhin, daß, wenn Natrium an Stelle des K geboten wird, diese Erscheinung quantitativ weniger stark zu beobachten ist, als wenn das Kalium durch Kalzium vertreten wird (Tabelle 2).

3. Versuch.

Ein Jahr später zur selben Zeit wurde der 1. Versuch unter gleichen Bedingungen wiederholt. Nährsalze nach Pfeiffer (+ K, — K + Na, — K — Na). Aussaat 26. Februar 1932. Temperatur 12 - 28° C, im Mittel um 18°. Witterung: Bis 5. März heiter, bis 11. wechselnd und trüb, hierauf bis 18. März heiter und Sonne. Rel. Luftfeuchtigkeit im Mittel meist 90—100 %, minimal (bei sonnigem Wetter mittags) bis 50 %. Bei milder Außentemperatur Haus gelüftet. Pflanzen geerntet am 13. März, 9 Uhr. Von jedem Gefäß wurde die Hälfte der Pflanzen frisch verarbeitet zur Bestimmung der N-Fraktionen, von der anderen Hälfte wurde nach dem Frischgewicht das Trockengewicht ermittelt. Das Material wurde zu diesem Zwecke bei 95° C vorsichtig getrocknet bis zur Gewichtskonstanz, hierauf blieb es noch einige Tage im Exsikkator stehen, wurde gewogen und danach von diesem Material der Gesamt-N bestimmt.

Tabelle 3.
N in ‰ des Frischgewichts, in ‰ des Gesamt-N.

	Gesamt-N	Eiweiß-N	Lösl. N	Bemerkungen
+ K	4,47 100,00	3,79 84,92	0,68 15,08	Alle Pflanzen mit drei Blättern. Das unterste Blatt der Mangelpflanzen von der Spitze her gebräunt und teilweise auch welk.
— K + Na	5,79 100,00	3,96 68,39	1,83 31,61	
— K — Na	5,84 100,00	4,61 79,01	1,23 20,99	

Die Ergebnisse dieses Versuches (Tabelle 3) bringen eine volle Bestätigung der beiden vorher geschilderten. Die Kalimangelpflanzen zeigen wiederum höheren Gesamt-N je Frischgewicht, woran beide Fraktionen beteiligt sind.

Bemerkenswert sind bei Vergleich von Tabelle 1—3 noch die Zahlen für den absoluten Gehalt an Gesamt-N, sowie die Prozentzahlen für den Eiweiß- und den löslichen N. Die Pflanzen eines jeden von den 3 Versuchen waren in einem gleich langen Zeitraum kultiviert worden, auch die Nährsalze und das Objekt waren dieselben. Trotzdem zeigen die jeweils analogen Kulturen verschiedenen Gesamt-N-Gehalt, wie auch das Verhältnis der beiden N-Fraktionen sehr schwankt. Abgesehen von den individuellen Verschiedenheiten der einzelnen Pflanzen sind wohl vor allem die äußeren Wachstumsfaktoren, besonders Besonnung — wie vielleicht auch Tageslänge — und Luftfeuchtigkeit an diesem Ergebnis maßgebend beteiligt.

Von der zweiten Hälfte der in dieser Versuchsreihe gezogenen Pflanzen wurde die Trockensubstanz und der Gesamt-N ermittelt. Die

Zahlen (Tabelle 4) zeigen zweierlei: Einmal, daß die Kalimangelpflanzen prozentual erheblich höheren Trockensubstanzgehalt aufweisen; d. h. sie besitzen geringeren Wassergehalt. Und zweitens, daß, auch auf die Einheit des Trockengewichts bezogen, ihr N-Gehalt größer ist als der der voll ernährten. Der in % des Frischgewichtes angegebene Gesamt-N soll nur dem Vergleich mit Tabelle 3 dienen.

Tabelle 4.

	+K	—K+Na	—K—Na
Trockensubstanz %	10,64	12,65	12,36
Gesamt-N in ‰ des Frischgewichts .	4,20	5,64	5,71
Gesamt-N in ‰ des Trockengewichts	3,95	4,46	4,61

4. Versuch.

Die bisher besprochenen Versuche zeigen ganz zweifelsfrei, daß eine ganz bedeutende, jedenfalls indirekte Beziehung des Kaliums zum Eiweißstoffwechsel besteht. Festzustellen war in unseren Versuchen jedenfalls überall die Tatsache, daß im Verhältnis zu Vollkulturen sämtliche Pflanzen, denen im Nährstoffgemisch an Stelle des K äquivalente Mengen Na bzw. Ca geboten wurden, höheren Stickstoffgehalt aufwiesen, und zwar bei Ca-Gabe in der Regel etwas stärker als bei Ersatz des K durch Na. Dieser erhöhte N-Gehalt kann nur als Ergebnis einer erhöhten Aufnahme von anorganischem Stickstoff durch die Wurzeln betrachtet werden, aber, und das ist wesentlich, bezogen auf die Einheitsmenge der erzeugten oberirdischen Frisch- oder Trockensubstanz.

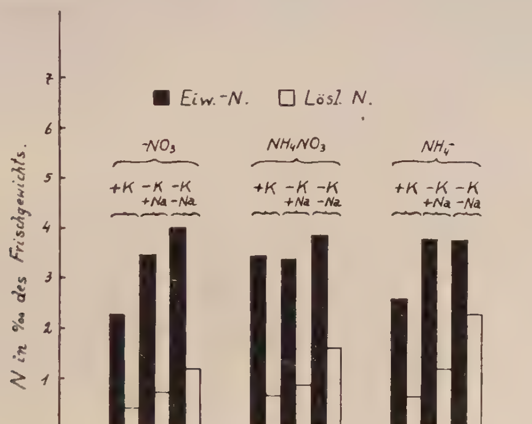


Abb. 1.
Avena sativa, ganze Pflanzen, 20 Tage alt.
Einfluß des K-Mangels auf die Eiweißbildung bei Nitrat- und Ammonsalzernährung.

Als N-Quelle in der Nährlösung war bisher immer NH_4NO_3 gegeben worden. Es fragte sich nun, ob Nitrate und Ammonsalze (vgl. Prianischnikow, Mevius, Mevius und Engel) bei K-Mangel von der Pflanze gleich oder verschieden aufgenommen und im Eiweißstoffwechsel verwertet würden.

Sandkultur, je Gefäß 18 Pflanzen. 3 Serien. Die erste erhielt a) volles Nährstoffgemisch nach v. d. Crone; b) dasselbe mit Ersatz des KNO_3 durch $NaNO_3$; c) dasselbe mit $Ca(NO_3)_2$. Die zweite erhielt die bisher verwendeten Salze nach Pfeiffer, a) + K; b) — K; c) — K — Na. Die dritte Reihe erhielt eine Nährlösung mit den Salzen wie bei v. d. Crone, mit Ausnahme des KNO_3 (5 g), das durch KCl (3 g) und $(NH_4)_2SO_4$ (3,25 g) ersetzt wurde. Das KCl wurde weiterhin durch NaCl (— K + Na), bzw. durch $CaCl_2$ (— K — Na) vertreten. Die Nährstoffmengen wurden wieder so gegeben, daß auf jedes Gefäß bzw. 18 Pflanzen jeweils 180 mg N entfielen. Die erste Reihe enthielt also den Stickstoff als Nitrat, die zweite als Ammonnitrat, die dritte als Ammonsulfat. Aussaat 14. Juni 1931 Kalthaus, Tag und Nacht gelüftet, bei Sonne stets geschattet. Temperatur maximal bis 35° C, Luftfeuchtigkeit minimal 40 %. Witterung: Anfangs schwül, abwechselnd bedeckt und heiter, ab 26. Juni bis 3. Juli heiter und Sonne. Die Pflanzen guttierten alle regelmäßig am Morgen. Sämtliche Kulturen geerntet am 4. Juli 1931, 7 Uhr. Abends zuvor Fenster des Hauses geschlossen, am Morgen der Ernte Temperatur 20° C, relative Feuchtigkeit 100 %.

Tabelle 5.

N in ‰ des Frischgewichts, in ‰ des Gesamt-N.

		Gesamt-N	Eiweiß-N	Lösl. N	NH_3-N	2 × Amid-N	Rest-N	Bemerkungen
Nitrat	+ K	2,66 100,00	2,26 84,97	0,40 15.03	0,09 3,24	0,00 —	0,31 11,79	Pflanzen grün, frisch, 2 bis 3 Blätter
	— K + Na	4,17 100,00	3,45 82,85	0,72 17,15	0,06 1,40	0,00 —	0,66 15,75	Wie vorige
	— K — Na	5,18 100,00	3,99 77,11	1,19 22.89	0,12 2,29	0,06 1,15	1,01 19,45	Wie vorige, unterstes Blatt a. d. Spitze braun
Ammonnitrat	+ K	4,05 100,00	3,41 84,23	0,64 15,77	0.03 0,81	0,00 —	0,61 14,96	Pflanzen grün, normal, 3 bis 4 Blätter
	— K + Na	4,22 100,00	3,36 79,61	0,86 20,39	0,13 3,11	0,03 0,78	0,70 16,50	3 Blätter, die beiden untersten an der Spitze braun. Pflanzen gleichmäßig dünn
	— K — Na	5,43 100,00	3,83 70,57	1,60 29,43	0,39 7,09	0,00 —	1,22 22,34	
Ammonsulfat	+ K	3,16 100,00	2,55 80,72	0,61 19.28	0,11 3,37	0,00 —	0,50 15,91	3 Blätter, unterste Spitze leicht gelb
	— K + Na	4,93 100,00	3,76 76,27	1,17 23,73	0,15 3,01	0 18 3,70	0,84 17,02	Wie vorige, Pflanzen mehr graugrün
	— K — Na	5,99 100,00	3,74 62,45	2,25 37,55	0,44 7,36	0,26 4,29	1,55 25,90	Wie vorige, Pflanzen dünner u. mehr vergilbt

Die Zahlen von Tabelle 5 zeigen wiederum die Tatsache des erhöhten N-Gehaltes bei K-Mangel. Deutlich tritt auch hier wieder die dem K gegenläufige Wirkung des Ca hervor, während das Na sich zwischen beiden hält. Was aber die Zahlen vor allem augenscheinlich

machen, ist dies, daß sämtliche Mangelkulturen, ob der Stickstoff nun als $NH_4^{\cdot}$ oder NO_3^- geboten wurde, erhöhten N-Gehalt aufwiesen, woran in der Regel sowohl Eiweiß wie auch die lösliche Fraktion beteiligt sind. Doch ist sehr bemerkenswert, daß bei den Mangelkulturen — besonders —K—Na — der lösliche N der Ammonnitrat- und besonders der Ammonsulfatkultur beträchtliche Erhöhung gegenüber dem der Nitratkultur zeigt, während der Eiweißgehalt in diesem Sinne wesentliche Verschiebungen nicht erfährt. Die gefundenen Ergebnisse lassen also zwar einen quantitativen, aber keinen qualitativen Unterschied in der Wirkung des K-Mangels auf den Eiweißstoffwechsel bei Ammonsalz- oder Nitraternährung erkennen. Auf diese Erscheinung wird noch bei der allgemeinen Diskussion zurückzukommen sein.

5. Versuch.

Oben ist schon erwähnt worden, daß bei der Wirkung des K-Mangels auf den N-Stoffwechsel der Haferpflanze anscheinend den Licht- und Feuchtigkeitsverhältnissen besondere Bedeutung zukommt. Im folgenden sei nun das Ergebnis eines Winterversuches geschildert, das diese Einflüsse noch etwas deutlicher werden läßt.

Sandkultur, Nährsalze nach v. d. Crone, +K und —K—Na. Aussaat am 24. Januar 1932. Temperatur 12 bis 20° C, Luftfeuchtigkeit 90 bis 100 %. Witterung: Anfangs trüb, dann vom 6. bis 18. Februar meist heiter und Sonne. Geerntet am 18. Februar, 9 Uhr. Die Hälfte der Ernte wurde frisch zu den N-Bestimmungen verarbeitet, von der anderen Hälfte wurde Trockengewicht und hierauf Gesamt-N ermittelt.

Tabelle 6.
N in ‰ des Frischgewichtes, in % des Gesamt-N.

	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N
+K	4,61	3,84	0,77
	100,00	83,37	16,63
—K—Na	5,33	4,62	0,71
	100,00	86,56	13,44

Der höhere N-Gehalt je Frischgewicht der Kalimangelpflanzen wird auch hier bestätigt. Doch kommt dieser allein durch den absolut und relativ höheren Gehalt an Eiweiß-N zustande, die Menge des löslichen N ist hier relativ und sogar absolut geringer. Auf Trockengewicht bezogen erscheint hier der Gesamt-N bei K-Mangel etwas geringer. Der Gehalt an Trockensubstanz ist wieder prozentual höher.

Zum Verständnis dieses Versuches möchte ich noch folgendes bemerken: Während der Kulturdauer der hier verarbeiteten Pflanzen herrschten sehr gleichmäßige Außenbedingungen, wenig Licht und von geringerer Intensität, kurze Sonnenscheindauer und vor allem damit zusammenhängend nur geringe Schwankungen der Temperatur der Pflan-

zen und der sie umgebenden Luft, ebenso blieb die Luftfeuchtigkeit konstant sehr hoch. Auf diese Umstände mit ist zweifellos auch der höhere Wassergehalt der Pflanzen zurückzuführen (vgl. die Trockensubstanz in Tabelle 4 und 7). Im Zusammenhang damit steht dann wohl

Tabelle 7.

	+ K	— K — Na
Trockensubstanz %	8,38	9,78
N in ‰ des Frischgewichtes	4,93	5,46
N in % des Trockengewichtes	5,89	5,58

weiter die hier geringere Spanne zwischen dem N-Gehalt der +K- und der K-Pflanzen, wenn auch hier augenscheinlich die Tatsache in Betracht gezogen werden muß, daß als anorganische N-Quelle kein Ammonsalz, sondern lediglich Nitrat gegeben worden war. Mit dem durch wenig schwankende Außenbedingungen geschaffenen gleichmäßigeren Wasserzustand der Gewebe hängt auch sicher zum Teil der im Verhältnis zum löslichen N sehr hohe Gehalt an Eiweiß-N zusammen. In allen meinen Kulturen zeigte sich immer, daß Kalimangelpflanzen gegen direkte Besonnung und Lufttrockenheit sehr empfindlich waren und leicht welkten, wobei die Unterschiede zu den voll ernährten Pflanzen ganz besonders deutlich hervortraten.

Bei Betrachtung der Ergebnisse von diesem Versuch im Hinblick auf einen eventuell möglichen Zusammenhang der K-Ernährung mit der Bildung der Kohlehydrate läßt sich kein Anhaltspunkt dafür gewinnen, daß dem Kalium eine besondere Bedeutung für den direkten Prozeß der Photosynthese oder für den weiteren Aufbau der Kohlehydrate zukomme. Denn würde das Kalium hier irgendwie in diese Stoffwechselvorgänge der Pflanzen eingreifen, so müßte dies vermutlich rückwirkend auf den Eiweißstoffwechsel besonders bei diesen unter ungünstigen Lichtverhältnissen gewachsenen Pflanzen zum Ausdruck kommen. Aber gerade die Kalimangelpflanzen zeigen hier bei geringerem winterlichen Lichtgenuß sehr hohen Eiweißgehalt, also müssen diesen Pflanzen wohl die zur Eiweißbildung nötigen Kohlehydrate hinreichend zur Verfügung gestanden haben, während bei deren Mangel ein Ansteigen des löslichen N zu erwarten gewesen wäre. Die allfällige Rolle des Kaliums bei der Kohlensäureassimilation kann auch, um mit Boresch zu reden, nicht darin bestehen, daß es der Pflanze den mangelnden Sonnenschein ersetzt.

6. Versuch.

Hafer in Wasserkultur. Zylindrische Glasgefäße von je 1300 ccm Inhalt, mit HCl Leitungs- und destilliertem Wasser mehrfach gewaschen. Nährstoffgemisch nach Pfeiffer, 180 mg N je Gefäß, danach die übrigen Salze, in 1250 ccm destilliertem Wasser (+ K, — K + Na, — K — Na). Die Gläser wurden mit schwarzem Papier umwickelt und mit

dicken paraffingetränkten Pappscheiben bedeckt, auf die die in einer Petrischale zwischen Fließpapier angekeimten, mit etwa 2,5 cm langen Wurzeln und hervorbrechender Koleoptile versehenen Pflänzchen zu je 2 in eingestanzte Löcher gesetzt (je Gefäß 24 Pflanzen) und mit einem Wattebäuschchen befestigt wurden, so daß die Wurzeln in die etwa $^1/_2$ cm darunter befindliche Nährlösung tauchen konnten. Die Nährlösung wurde jeden dritten Tag auf das ursprüngliche Maß mit H_2O ergänzt und mit einer feinen Pipette vermittels Durchblasen von Luft sorgfältig umgerührt. Hafer angekeimt am 24. Februar 1932. Keimpflanzen auf die Nährlösung gesetzt 27. Februar. Kaltabteilung. Witterung wie bei Versuch 3.

Sämtliche Pflanzen, Sproß und Wurzel gesondert, wurden am 18. März, 9 Uhr, geerntet. Die Hälfte der Pflanzen von jedem Gefäß wurde frisch zur Bestimmung des Eiweiß- und des löslichen N verarbeitet, die andere Hälfte wurde zur Bestimmung der Trockensubstanz und hierauf des Gesamt-N verwendet. Die Wurzeln wurden bei der Ernte abgeschnitten, in bereitgestellte Bechergläser mit Wasser geworfen, mehrmals abgespült, dann zwischen Fließpapier mit der Hand leicht abgepreßt, um das anhaftende Wasser zu entfernen, hierauf gewogen.

Alle Pflanzen hatten 3 Blätter entwickelt, von denen das jüngste bei allen Kulturen einige Neigung zur Chlorose zeigte, was zweifellos mit der Art der Nährlösung zusammenhängt (vgl. dazu Benecke 1909). Die untersten Blätter der Mangelpflanzen waren, wie schon sonst immer beobachtet, von der Spitze her gebräunt und (— K — Na) etwas welk. Die — K + Na-Pflanzen zeigten diese Syptome geringer. Das Aussehen der Wurzeln war ganz charakteristisch und deckte sich ungefähr mit der entsprechenden Schilderung von Hansteen-Cranner. Die voll ernährten Pflanzen zeigten normale gesunde Wurzeln mit langen schönen Seitenwurzeln, die Mangelpflanzen besaßen dagegen ohne Unterschied Wurzeln mit nur sehr kurzen Seitenwurzeln — oft gleichsam als ob deren Vegetationspunkt in der Rinde der Hauptwurzel stecken geblieben wäre — aber meist sehr langen und reichlichen Wurzelhaaren.

Tabelle 8.

N in ‰ des Frischgewichts, in % des Gesamt-N.

		Durchschnittliches Frischgewicht je Pflanze g	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N
Sproß	+ K	0,292	4,51 100,00	3,24 71,88	1,27 28,12
	— K + Na	0,230	5,76 100,00	3,52 61,10	2,24 38,90
	— K — Na	0,172	6,17 100,00	3,54 57,25	2,63 42,75
Wurzel	+ K	0,113	3,52 100,00	1,90 52,76	1,62 47,24
	— K + Na	0,088	4,03 100,00	2,00 49,72	2,03 50,28
	— K — Na	0,068	3,50 100,00	1,81 51,68	1,69 48,32

Aus Tabelle 8 läßt sich wieder der höhere N-Gehalt der Mangelpflanzen entnehmen, der sich sowohl auf den höheren Gehalt an Eiweiß-N wie auch auf den ganz bedeutend erhöhten Wert für den löslichen N

erstreckt. Die N-Verhältnisse der Wurzeln lassen keine ganz einheitliche Betrachtung zu; der Wert für die —K—Na-Pflanzen fällt aus der Reihe heraus.

Tabelle 9.

		+K	—K+Na	—K—Na
Sproß	Trockensubstanz %	8,70	9,09	9,62
	Gesamt-N in ‰ des Frischgewichts	4,44	5,39	5,94
	Gesamt-N in % des Trockengewichts	5,10	5,93	6,17
Wurzel	Trockensubstanz %	5,75	6,00	6,53
	Gesamt-N in ‰ des Frischgewichts	2,87	3,02	3,15
	Gesamt-N in % des Trockengewichts	4,99	5,04	4,83
Sproß +Wurzel	Gesamt-N in ‰ des Frischgewichts	13,67	16,19	18,40
	Gesamt-N in % des Trockengewichts	23,77	26,98	28,19

Bei Betrachtung von Tabelle 9 tritt wieder die prozentual höhere Trockensubstanz der Mangelpflanzen hervor, sowie daß auch auf Trockengewicht bezogen deren Gesamt-N-Gehalt erheblich höher ist. Die gleichen Verhältnisse wie für den Sproß ergeben sich auch bezüglich Trockensubstanz und N-Gehalt je Frischgewicht für die Wurzeln; wird hier der Stickstoff auf Trockengewicht bezogen, treten die Verhältnisse nicht so deutlich hervor. Am Schluß der Tabelle ist der Gesamt-N-Gehalt der ganzen Pflanzen ausgedrückt in ‰ des Frisch- bzw. in % des Trockengewichts der Wurzeln angegeben. Doch möchte ich diesen Zahlen nur eine bedingte Bedeutung zumessen; es wird im weiteren noch darauf zurückzukommen sein. Das Verhältnis Sproßfrischgewicht: Wurzelfrischgewicht beträgt bei +K 2,6, bei —K+Na 2,4, bei —K—Na 2,5.

Das Pflanzenmaterial der hier geschilderten Wasserkultur wurde in gleicher Zeit und mit denselben Nährsalzen wie das der im 3. Versuch angeführten Sandkultur herangezogen. Ich möchte dabei noch auf einige trotzdem beobachtete Unterschiede hinweisen. Wie schon bemerkt, neigten alle Pflanzen der Wasserkulturen mit den Pfeifferschen Nährsalzen zu einer leichten Chlorose, während eine solche bei Sandkultur niemals in Erscheinung trat, im Gegenteil, die Pflanzen erfreuten sich hier stets des denkbar besten Aussehens. Der prozentuale Trockensubstanzgehalt aller Pflanzen in Wasserkultur ist erheblich niedriger, die Wassersättigung ihrer Gewebe also höher, ohne Unterschied, ob es voll ernährte oder Mangelpflanzen waren. Gleichwohl hält sich der N-Gehalt je Frischgewicht in etwa gleicher Höhe bei den analogen Kulturen in Wasser und Sand, während er auf Trockengewicht bezogen wegen der geringeren Trockensubstanz bei Wasserkultur höhere Werte annehmen mußte.

Oben ist bereits auf die besonderen Verhältnisse des Wasserzustandes hingewiesen worden. Offenbar ist nun die Wasserversorgung der Pflanzen

in Wasserkultur leichter oder geregelter, während sie sich im Sande wenigstens zeitweise schwieriger stellen mag. Bei allem Vorbehalt könnte man durch einen Vergleich der Zahlen dieser beiden Versuche den Eindruck gewinnen, daß die Menge des Gesamt-N des Sprosses der gleich kultivierten Pflanzen mit höherem und geringerem Wassergehalt der Gewebe infolge leichterer und schwierigerer Wasserversorgung, ganz allgemein in einem gewissen direkten Verhältnis zum Wassergehalt der Gewebe, nicht aber zur Trockensubstanz steht.

7. Versuch.

Wasserkultur, wie der 6. Versuch. Nährstoffgemisch nach v. d. Crone, 180 mg N je Gefäß, + K und — K — Na, je Gefäß 12 Pflanzen. Hafer angekeimt am 24. September 1931. Keimpflanzen auf Nährlösung gesetzt am 27. September. Kalthaus. Während der ganzen Wachstumszeit sonniges Wetter, Temperatur 12—25° C, relative Feuchtigkeit meist 90—100 %, Haus nach Tunlichkeit gelüftet.

Sämtliche Pflanzen, Sproß und Wurzel gesondert, geerntet am 15. Oktober 1931, 8 Uhr. Alle hatten 3 Blätter entwickelt. Bei den Kulturen in Kalziumnitrat (— K — Na) war das unterste Blatt von der Spitze abwärts jeweils etwas gebräunt, jedoch frisch. Ganz bemerkenswerte Unterschiede zwischen Vollkultur und K-Mangelkultur zeigten wiederum die Wurzeln. Während jene reichlich und feine Seitenwurzeln aufwiesen, zeigten die K-mangelpflanzen lange, derbere und kaum verzweigte Wurzeln. Beide jedoch waren von frischer weißer Farbe. Als Ganzes fühlten sich die der Mangelkulturen derb und knorpelig, die der Vollkulturen weich und fein an.

Verarbeitung wie im vorigen Versuch. Zwei Kulturen, jeweils Sproß- und Wurzelmasse sämtlicher Pflanzen, wurden zur Ermittlung der Stickstofffraktionen, zwei analoge zur Bestimmung des Trockengewichtes und des Aschengehaltes verwendet.

Tabelle 10.
N in ‰ des Frischgewichts, in % des Trockengewichts.

		Durchschnittsfrischgewicht bzw. -trockengewicht je Pflanze g	Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N
Sproß	+ K	0,450	4,04	3,08	0,96
		0,037	4,94	3,77	1,17
	— K — Na	0,246	5,01	3,87	1,14
		0,024	5,07	3,92	1,15
Wurzel	+ K	0,215	1,71	1,00	0,71
		0,011	3,22	1,88	1,34
	— K — Na	0,216	1,73	1,00	0,73
		0,010	3,56	2,05	1,51
Sproß + Wurzel	N in ‰ der Wurzelfrischsubstanz	+ K	10,19	7,46	2,73
		— K — Na	7,41	5,39	2,02

Die Kalimangelpflanzen zeigen auch hier wieder auf die Einheitsmenge Frischsubstanz höheren Gesamt-N-Gehalt, woran aber bei dem Material dieses Versuches der Eiweiß-N stärker beteiligt erscheint.

Hier obwalten also auch dieselben Verhältnisse (Jahreszeit Herbst) wie im 5. Versuch. In den Wurzeln ist der N-Gehalt je Frischgewicht von beiden Reihen gleich groß.

Bezieht man nun den N-Gehalt auf die Trockensubstanz — hier errechnet nach Tabelle 11 (was bei der großen Einheitlichkeit des hier

Tabelle 11.

	Sproß		Wurzel	
	+K	−K − Na	+K	−K − Na
Durchschnittsfrischgewicht einer Pflanze in g	0,447	0,238	0,193	0,222
Trockensubstanz in % des Frischgewichts	8,17	9,89	5,28	4,84
Asche tn % des Trockengewichts	23,88	8,88	11,61	20,35

gewonnenen Pflanzenmaterials, vgl. die Durchschnittsfrischgewichte je Pflanze in Tabelle 11 und 12, angängig erscheint) —, so ergäbe sich, daß auch auf Trockengewicht bezogen die Tatsache des wenn auch hier nur gering erhöhten N-Gehaltes der Mangelpflanzen bestehen bleibt, wenn auch bei weitem nicht in dem Maße, als wir es zu günstigerer Jahreszeit (Versuch 3 und 6) und bei Vorhandensein von Ammonsalz in der Nährlösung feststellen konnten, aber jedenfalls doch noch deutlicher im Gegensatz zu dem Winterversuch Nr. 5.

Wenn wir nun aber, wie im zuvor geschilderten Versuch, von der Vorstellung ausgehend, daß sämtlicher Stickstoff des Sprosses und der Wurzeln durch das Wurzelsystem dem Substrat entnommen wurde, die Werte für den N auf die Einheit der Wurzelmasse beziehen, so ergibt sich für die Kalimangelpflanzen ein erheblich geringerer N-Gehalt bzw. eine geringere Aufnahme von anorganischem N durch das Gramm Wurzelsubstanz, soweit eben eine solche Bezugnahme überhaupt zulässig ist und Anhaltspunkte bieten kann. Dieser Versuch ergibt infolge der gleich guten Wurzelausbildung in voller und K-freier Nährlösung in dieser Hinsicht also ein anderes Bild als der vorher geschilderte. Es ist wahrscheinlich, daß die v. d. Cronesche Nährlösung als Wasserkultur für die Pflanze und besonders für die Wurzelausbildung wesentlich geeigneter ist als das Pfeiffersche Gemisch (vgl. Benecke 1909).

Die Zahlen der Tabelle 11 zeigen wieder den höheren Trockensubstanzgehalt der Kalimangelpflanzen. Das Sproßgewicht ist bei K-Mangel bedeutend geringer, während beide Reihen eine ungefähr gleich große Wurzelmasse erzeugt haben. Das Verhältnis Sproßfrischgewicht zu Wurzelfrischgewicht beträgt bei +K 2,32, bei —K—Na 1,07. Es zeigt sich also, daß hier zwischen den +K- und —K-Pflanzen in der Ausbildung der Sproßorgane weitgehende quantitative Differenzen bestehen, während dies bei den Wurzeln weniger quantitativ als vielmehr qualitativ der Fall zu sein scheint.

Am Schluß der Schilderung dieses Versuches möchte ich nochmals nachdrücklich darauf hinweisen, daß den Außenbedingungen bei derartigen Kulturversuchen eine besondere Aufmerksamkeit geschenkt werden muß. Lichtmenge, Luftfeuchtigkeit, Temperatur schwanken mit der Jahreszeit sehr und machen sich auch bei solchen Gewächshausversuchen, wo man die beiden letzten Faktoren noch in gewissen Grenzen regeln kann, bemerkbar. In den verschiedenen hier angeführten Versuchsreihen mit demselben Hafer, die jedoch zu verschiedener Jahreszeit gezogen wurden, sind z. B. die absoluten Zahlen (‰ des Frischgewichtes) für den N-Gehalt sämtlicher Vollkulturen zu verschiedener Jahreszeit recht verschiedene. Das hängt zweifellos mit dem durch die genannten Außenfaktoren bestimmten physiologischen Zustand der Gewebe, wobei wiederum den Wasserverhältnissen eine ausschlaggebende Rolle beizumessen ist, sehr weitgehend zusammen. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen wurde bei der Ernte des Pflanzenmaterials zu den geschilderten Versuchen stets darauf gesehen, daß die Ernte bei einer relativen Feuchtigkeit von 100 % im Versuchshaus und immer am Morgen nach wenigstens einem sonnigen Tage vorgenommen und dabei möglichst rasch gearbeitet wurde.

b) *Tradescantia laekenensis.*

8. Versuch.

Sandkultur, Nährsalze nach v. d. Crone (+K und —K—Na). Stecklinge von einer im hiesigen botanischen Garten unter dem Namen *laekenensis* kultivierten *Tradescantia* wurden in der Weise hergestellt, daß von jüngeren Kulturen Achsenstücke der Pflanzen abgeschnitten wurden, die aus einem Internodium und den beiden angrenzenden Knoten bestanden. Das Blatt des basalen Knotens wurde abgeschnitten, die Stecklinge mit dest. Wasser sauber gewaschen, mit dem basalen Knoten in den Sand eingepflanzt, je Gefäß 10 Pflanzen. In der Achsel des am apikalen Knoten entspringenden Blattes entwickelte sich nun eine Seitenachse, deren Blätter zur Untersuchung verwendet wurden. 12 Gefäße (6 +K, 6 —K—Na). Stecklinge gepflanzt am 16. September 1931.

Vor der Ernte wurden von jedem Gefäß diejenigen Seitensproße markiert, die 9 bis 11 voll entfaltete Blätter besaßen. Die Blätter der einen Hälfte der Seitenachsen jedes Gefäßes wurden für die Bestimmung der N-Fraktionen, die andere Hälfte zur Ermittlung der Trockensubstanz mit nachfolgender Bestimmung des Gesamt-N verwendet. Von jeder Achse wurden 2 Portionen Blätter, obere und untere, genommen. Als obere wurden die 3 jüngsten voll entfalteten Blätter, als untere das 3.—5. Blatt (von unten gerechnet) bezeichnet; das Primär- und das Sekundärblatt wurden, weil sie noch nicht von normaler Größe sind, ausgeschaltet. Geerntet wurde am 2. Januar 1932.

Aussehen der Kulturen zur Erntezeit: Die Seitenachsen der —K-Pflanzen kürzer, gedrungener, untere Blätter bereits zum Teil leicht gelb, während diese bei den +K-Pflanzen noch frisch grün waren. Die Vollkulturen zeigten ein sehr üppiges, die Mangelkulturen ein mehr oder weniger schütteres Aussehen.

Da die Pflanzen während des Winters gewachsen waren, läßt sich das Ergebnis am ehesten mit dem des Haferversuches Nr. 5 vergleichen. Tabelle 12 zeigt für die oberen Blätter bei K-Mangel je Frischgewicht

einen gering erhöhten Gesamt-N-Gehalt, der ausschließlich, wie im 5. Versuch (Tabelle 6), durch den erhöhten Eiweißgehalt zustande kommt. Die unteren Blätter zeigen ein abweichendes Verhalten. Bei den —K-Pflanzen befanden sich diese, wie bereits erwähnt, im ersten Stadium des Vergilbens. Offenbar wurde ihnen während des Wachstums die in der

Tabelle 12.
N in ‰ des Frischgewichts, in % des Gesamt-N.

		Gesamt-N	Eiweiß-N	Löslicher N
Obere Blätter	+K	2,23 100,00	1,94 86,88	0,29 13,12
	—K—Na	2,45 100,00	2,18 88,97	0,27 11,03
Untere Blätter	+K	1,72 100,00	1,43 83,20	0,29 16,80
	—K—Na	1,59 100,00	1,37 86,06	0,22 13,94

Pflanze vorhandene geringe K-Menge entzogen und den jüngeren Blättern zugeführt, so daß bei ihnen ein rascheres Altern und verstärkter Abtransport der Eiweißkörper einsetzte im Gegensatz zu den +K-Pflanzen. Darauf ist wahrscheinlich der geringere N-Gehalt der unteren Blätter der —K-Pflanzen zurückzuführen.

Tabelle 13.

	Obere Blätter		Untere Blätter	
	+K	—K—Na	+K	—K—Na
Frischgewicht von 100 qcm Blattfläche in g .	3,12	2,92	4,53	4,20
Trockengewicht von 100 qcm Blattfläche in g	0,167	0,167	0,228	0,237
Trockensubstanz %	5,36	5,72	5,02	5,65
Gesamt-N in ‰ des Frischgewichts	2,31	2,32	1,79	1,66
Gesamt-N in % des Trockengewichts . . .	4,31	4,06	3,56	2,94
Gesamt-N je 100 qcm Blattfläche	7,20	6,78	8,11	6,96

Tabelle 13 gibt die Zahlen über die andere Hälfte des Versuchsmaterials, die zur Trockengewichtsbestimmung verwendet worden war. Hier wurde auch die Blattfläche in die Betrachtung einbezogen. Diese wurde durch Abzeichnen der Blätter auf Karton und vergleichendes Auswiegen desselben bestimmt. Aus der Zusammenstellung geht hervor, daß die gleiche Blattfläche bei voller Ernährung etwas größeres Frischgewicht, aber etwa gleiches Trockengewicht besitzt wie bei —K. Also schon ein Hinweis auf den geringeren Wassergehalt der Mangelpflanzen, der in der prozentual höheren Trockensubstanz seinen Ausdruck findet. Aus den Zahlen über den Trockensubstanzgehalt der gleichen Blattfläche geht auch hervor, daß sich diese als Bezugsgröße wegen der Dickenverschiedenheit der Blätter für vergleichende Studien nur mit Vorsicht

verwenden läßt, worauf ja Mothes schon mehrfach hingewiesen hat. Die Werte für den N-Gehalt lassen hier kaum einen Unterschied zwischen +K- und —K-Pflanzen erkennen, wobei eben die Wachstumsverhältnisse der Jahreszeit wie schon betont ins Gewicht fallen.

c) *Sinapis alba.*

9. Versuch.

In Quarzsand, je Gefäß 18 Pflanzen. Nährsalze nach Pfeiffer (+K, —K+Na). Aussaat am 1. März 1931. Da die kleinen Samen nur geringen Vorrat an Reservestoffen (K) besitzen, und die Mangelkulturen vorzeitig verkümmert wären, wurden außerdem noch zu sämtlichen Gefäßen beider Reihen je 5 ccm 1 %ige KCl-Lösung hinzugegeben. Als die meisten Pflanzen das 6. Blatt (ohne Kotyledonen) entfaltet hatten, wurde geerntet; Pflanzen

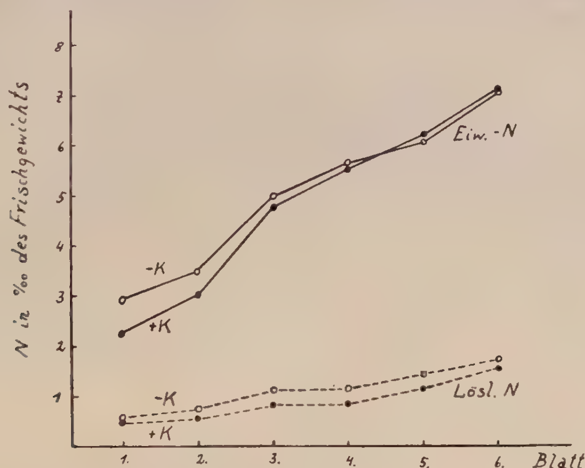


Abb. 2.

Sinapis alba. In komplettem Nährsalzgemisch mit K und ohne K (+Na). N-Gehalt der Blätter verschiedener Insertionshöhe.

die nicht diese Entwicklung zeigten, wurden ausgeschieden. Von jeder der beiden Reihen wurden jedesmal sämtliche Blätter gleicher Insertionshöhe (mit Ausschluß der Kotyledonen) ohne Stiele, vom Keimblätterpaar gegen den Sproßvegetationspunkt zu mit 1—6 bezeichnet, gemeinsam gewogen und zur Analyse verarbeitet. Ernte am 11. April 1931.

Äußere Merkmale: Pflanzen der Vollkulturen hochgewachsen, 15—20 cm, straff im Wuchs, Blätter flach ausgebreitet, emporgerichtet. In den Mangelkulturen die Pflanzen gedrungener, 10—12 cm hoch, zur rosettigen Ausbildung neigend. Blätter mit der Unterseite nach innen meist ziemlich eingerollt. Bezüglich Blattzahl und Farbe nicht weiter merkbar von den + K-Pflanzen abweichend.

Dieser Versuch zeigt einmal die bekannte Tatsache, daß der Gehalt an Gesamtstickstoff und dabei wieder vorzugsweise der Eiweiß-N mit dem Alter der Blätter abnimmt, bzw. daß die jüngsten Blätter jeweils die eiweißreichsten sind. Im Hinblick auf unser Problem bestätigt er im wesentlichen die Ergebnisse der früheren Versuche. Der Gesamt-N aller 6 Blätter ist bei K-Mangel zahlenmäßig größer, desgleichen erscheint

Tabelle 14.
N in ‰ des Frischgewichts, in % des Gesamt-N.

Blatt-Nr.		Verarbeitete Menge Frischsubstanz in g	Gesamt-N	Eiweiß-N	Lösl. N	NH_3-N	2 + Amid-N	Rest-N
1	+K	3,86	2,71 100,00	2,24 82,62	0,47 17,38	0,04 1,34	0,10 3,74	0,33 12,30
	—K+Na	4,21	3,49 100,00	2,92 83,78	0,57 16,22	0,05 1,53	0,11 3,05	0,41 11,64
2	+K	4,25	3,60 100,00	3,04 84,44	0,56 15,56	0,03 0,73	0,08 2,20	0,46 12,63
	—K+Na	5,31	4,24 100,00	3,50 82,59	0,74 17,41	0,03 0,75	0,15 3,48	0,56 13,18
3	+K	4,03	5,61 100,00	4,78 85,14	0,83 14,86	0,06 0,99	0,17 2,97	0,61 10,90
	—K+Na	4,47	6,09 100,00	4,96 81,49	1,13 18,51	0,05 0,82	0,28 4,52	0,80 13,17
4	+K	3,41	6,35 100,00	5,51 86,76	0,84 13,24	0,03 0,52	0,26 4,14	0,54 8,58
	—K+Na	4,26	6,79 100,00	5,64 83,05	1,15 16,95	0,05 0,77	0,32 4,65	0,78 11,53
5	+K	1,78	7,34 100,00	6,20 84,46	1,14 15,54	0,06 0,86	0,25 3,43	0,83 11,25
	—K+Na	2,21	7,54 100,00	6,08 80,67	1,46 19,33	0,10 1,35	0,36 4,71	1,00 13,27
6	+K	1,10	8,63 100,00	7,10 82,30	1,53 17,70	0,15 1,77	0,10 1,18	1,28 14,75
	—K+Na	1,13	8,77 100,00	7,04 80,22	1,73 19,78	0,30 3,39	— —	(1,43) (16,39)

der lösliche Stickstoff absolut und relativ gegenüber den Pflanzen in Vollkultur vermehrt. Der absolute Gehalt an Eiweiß-N zeigt nur im 1.—4. Blatt größeren Wert; im 5. und 6. liegt er ungefähr gleich mit dem entsprechenden der +K-Pflanzen.

10. Versuch.

Kultur in gut gereinigtem Flußsand. Nährsalze nach v. d. Crone (+ K, — K + Na). Je Gefäß 10 Pflanzen. Aussaat am 9. Oktober 1930. Temperatur während des Wachstums zwischen 15°—22° C, relative Feuchtigkeit 80—100%. Als die Pflanzen etwa 7—8 Blätter gebildet hatten, wurden diese geerntet. Die über der Mitte der Achse inserierten Blätter wurden als „obere Blätter", die unter diesen mit Ausschluß der Kotyledonen als „untere Blätter" bezeichnet und beide Portionen von jeder Kulturreihe verarbeitet. Geerntet am 13. Dezember. Äußerliche Unterschiede zwischen Voll- und Mangelkulturen waren nicht merkbar.

Dieser Versuch ist natürlich, da hier nur gewaschener Flußsand als Kulturmedium diente, weniger exakt. Er läßt sich am ehesten mit dem 8. (Tradescantia) vergleichen. Er wurde nur deshalb noch angeführt,

Tabelle 15.
N in ‰ des Frischgewichts.

		Verarbeitete Menge Blattfrischgewicht in g	Gesamt-N	Eiweiß-N	Lösl. N
Obere Blätter	+ K	5,88	6,08	4,80	1,28
	— K + Na	6,06	6,33	4,81	1,52
Untere Blätter	+ K	5,73	3,57	2,96	0,61
	— K + Na	5,51	3,53	2,87	0,66

um zu zeigen, daß nur nach genauer Beachtung der äußeren Wachstumsfaktoren eine richtige Beurteilung unserer Frage möglich ist.

d) *Aspergillus niger.*

Seit langem (Benecke 1895) ist es bereits einwandfrei festgestellt, daß auch die Heterotrophen für ihre normale Entwicklung des Kaliums

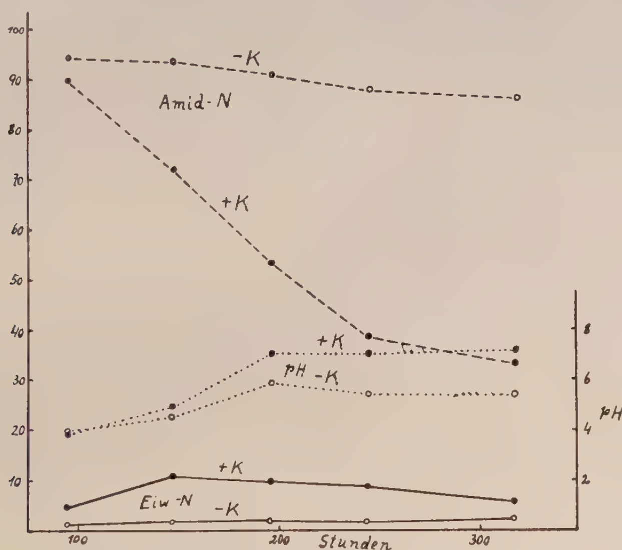


Abb. 3.
Aspergillus niger. Abbau von Acetamid und Eiweißbildung durch den Pilz auf K-haltiger und K-freier Nährlösung.

unbedingt im Nährsubstrat bedürfen. Im Hinblick darauf wurde der im folgenden geschilderte Versuch durchgeführt.

11. Versuch.

Kultur in mit Salzsäure ausgekochten, mit destilliertem Wasser sorgfältig gewaschenen Erlenmeyerkolben, Jenaer Glas, 200 ccm Inhalt, auf 50 ccm Nährlösung. Die eine Reihe + K, die andere — K + Na. Die Nährlösung enthielt auf 1 Liter H_2O: 20 g Acetamid;

30 g Rohrzucker; 0,25 g NaH_2PO_4; 0,25 g $MgSO_4 + 7 H_2O$; 0,25 g $CaSO_4$; Spur Fe_2Cl_6; 0,5 g KCl bzw. NaCl. Als Stickstoffquelle wurde Acetamid gewählt einmal, weil es einen guten N-Nährstoff darstellt, dann weil es bei den N-Bestimmungen methodisch leicht faßbar ist, sowie auch deswegen, weil es durch den Pilz nicht fermentativ (vgl. Schmalfuss und Mothes) abgebaut wird und sich infolgedessen allfällige pH-Schwankungen des Substrats während des Wachstums nicht in dem Maße auswirken dürften. Die Kolben wurden 3 × bei 100° C sterilisiert, geimpft von Reinkultur am 29. Nov. 1930 12 Uhr. Im Thermostaten bei 32—33° C. Analysiert jeweils gleichzeitig eine + K — und eine — K-Kultur nach bestimmten Zeitabständen.

Verarbeitung: Nährlösung + Pilzdecke auf ein quantitatives Filter gebracht, Myzel noch mehrmals mit H_2O sorgfältig abgespült. Pilz + Filter mit etwas Toluol und Quarzsand fein zerrieben, Eiweiß gefällt mit Tannin wie üblich. Nach halbstündigem Stehen filtriert. Der N des Filtrats erscheint in der Tabelle als „löslicher N“, der des Filterrückstandes als Eiweiß-N. Vom ersten Filtrat (Nährlösung, ergänzt auf 200 ccm) wurden in aliquoten Teilen bestimmt: Der Gesamt-N nach Kjeldahl; der NH_3-N durch Vakuumdestillation bei 40° C; der pH kolorimetrisch nach Bjerrum-Arrhenius[1]). Jeder Analysenwert der Tabelle ist das Mittel aus zwei Parallelbestimmungen. Der Amid-N des Substrats wurde aus der Differenz zwischen Gesamt- und NH_3-N errechnet.

Aussehen der Kulturen: + K: Nach vier Tagen das Myzel schon lückenlos, dicht, reichlich Sporen; weiterhin zunehmende Bräunung von Pilz und Nährboden. — K: Pilzdecke schwach, schleimig, weiß; nur hier und da ganz spärlich Konidien ausgebildet (vgl. K-freies Penicillium bei Doby und Kertész), Nährlösung bleibt bis zum Abbruch des letzten Versuches hell.

Tabelle 16.
N in mg.

Versuchsdauer in Stunden		Pilz + Nährlösung: Gesamt-N	Pilz		Nährlösung		
			Eiweiß-N	Lösl. N	Amid-N	NH_3-N	pH
94	+ K	227,40	10,99	12,01	203,28	1,12	3,85
	— K + Na	226,95	2,91	8,79	213,71	1,54	3,90
147	+ K	225,12	24,29	17,43	159,46	23,94	4,90
	— K + Na	226,42	3,82	5,60	211,96	5,04	4,50
195	+ K	224,56	21,98	19,53	121,45	61,60	7,10
	— K + Na	230,54	4,20	4,94	206,38	15,02	5,90
243	+ K	221,76	19,46	21,70	88,06	92,54	7,05
	— K + Na	226,49	3,89	5,95	198,94	17,71	5,50
316	+ K	216,51	12,60	10,36	75,95	117,60	7,15
	— K + Na	226,28	4,88	5,45	183,12	32,83	5,40

Die Zahlen von Tabelle 16 zeigen den beträchtlichen Einfluß der K-Wirkung auch für diesen heterotrophen Organismus. Der Eiweiß-N des Pilzes der —K-Reihe besitzt nach etwa 150 Stunden seinen maximalen Wert; von diesem Zeitpunkt an überwiegt bei weiterer Kulturdauer der Eiweißabbau. Die Spaltung des Amids geht mit gleicher Geschwindigkeit vonstatten, um dann wohl infolge angehäuften Ammoniaks etwas

[1]) Herrn Privatdozent Dr. C. Schlieper danke ich bestens für die freundliche Überlassung der Apparatur.

gehemmt zu werden. Der pH liegt anfangs auf der saueren Seite, steigt aber rasch, was ebenfalls auf eine starke Anhäufung von NH_3 im Substrat zurückzuführen ist; in den letzten beiden Kulturen (vgl. Gesamt-N-Zahlen) dürften bereits Spuren davon entwichen sein, da die Reaktion des Nährmediums bereits neutral war. Im Vergleich dazu ergibt die Betrachtung der —K+Na-Reihe ein wesentlich anderes Bild. Die Eiweißbildung des Pilzes ist nur geringfügig gegen die der Vollkulturen. Während der ganzen Versuchsdauer ist ein leichtes Steigen der Eiweißwerte zu bemerken. Der Abbau des Amids geht beim Mangel des K infolge gehemmten Wachstums des Pilzes nur sehr langsam und träge vor sich, obwohl eine optimale H-Konzentration für die Entwicklung des Pilzes vorhanden ist. Dieser Versuch spricht indirekt gleichfalls nicht für eine Beteiligung des Kaliums am Aufbau der Kohlehydrate. Der Pilz ist ja gegenüber der grünen Pflanze auf das Vorhandensein von Kohlenstoffketten im Nährboden angewiesen. Er zeigt hier bei Vorhandensein dieser aber bei K-Mangel ganz bedeutend mangelhaftere Entwicklung sowie sehr stark gehemmte Stoffwechselfunktionen.

C. Diskussion.

I. Vergleich der eigenen Befunde mit denen anderer Autoren.

Die Angaben über geringeren Wasser- bzw. höheren Trockensubstanzgehalt der Kalimangelpflanzen (Burrell, Hartt, Janssen und Bartholomew) konnten durch unsere Ergebnisse vollauf bestätigt werden. In gewissem Sinne sprachen ja auch die Versuche Hansteens und Kissers schon dafür.

Bezüglich des höheren Stickstoffgehalts der ohne K gezogenen Pflanzen ergab sich ebenfalls mit den vorliegenden Resultaten anderer Forscher eine völlige Übereinstimmung (Burrell, Janssen und Bartholomew, Nightingale und Mitarbeiter, Mevius und Dikussar), gleichgültig, ob auf Frisch- oder auf Trockengewicht bezogen. Weiterhin stimmen unsere Ergebnisse mit denen der letztgenannten Forscher darin überein, daß an der Erhöhung des Gesamtstickstoffgehaltes sämtliche N-Fraktionen beteiligt sind, sowie darin, daß die den Pflanzen zur Verfügung stehende anorganische N-Quelle in dieser Hinsicht qualitativ ohne Bedeutung ist.

Von hier ausgehend lassen die Ergebnisse auch in gewissem Sinne eine Deutung der Erfahrung zu, daß K-Mangel ähnliche Wirkungen zur Folge hat wie N-Überschuß. Es ergibt sich da die zwanglose Erklärung, daß bei K-Mangel in der Pflanze erheblicher N-Überschuß erzeugt wird, hinreichendes Vorhandensein anorganischer N-Verbindungen im Boden vorausgesetzt. In diesem Zusammenhang seien die Ergebnisse von Schaffnit und Volk sowie neuerdings die von Gaßner und Hassebrauk hervorgehoben, die bei K-Mangel und bei N-Überschuß eine

erhebliche Steigerung der Rostanfälligkeit feststellen konnten. Auf die Schlußbemerkungen dieser interessanten Arbeit kann hier nur hingewiesen werden. Ebenso werden vielleicht bis zu einem gewissen Grade die Angaben von Rüdiger deutbar, der in Wasser, Torf, Schlamm und Kulturpflanzen zwischen der Menge des K und des N umgekehrte Proportionalität finden will.

Wenn wir nun an Hand der gewonnenen Ergebnisse zu prüfen versuchen, ob sich eine direkte Beziehung des Kaliums zum Aufbau der Eiweißstoffe der Pflanze, etwa im Sinne von Weevers, ergibt, so findet sich darüber kein Anhaltspunkt. Auch die Vermutung Pfeffers (S. 417 ff.), daß das K wahrscheinlich in organischer Bindung am Aufbau des Protoplasten beteiligt sei, erhält dadurch keine Stütze. Wir konnten in unseren Versuchen bei K-Mangel, abgesehen von dem höheren Gesamt-N-Gehalt, regelmäßig (auch auf Trockengewicht reduziert) keinen geringeren Eiweißgehalt feststellen als bei voll ernährten Pflanzen. Läge irgend eine direkte Beziehung des K zum Aufbau oder der Bildung der Eiweißkörper vor, so müßten die Verhältnisse gerade umgekehrt gelegen haben, als es gefunden wurde.

Für eine direkte Beteiligung des Kaliumions an der Photosynthese oder dem Kohlehydratstoffwechsel überhaupt (Stoklasa u. a.) sprechen die vorliegenden Resultate gleichfalls nicht. Wäre bei K-Mangel die Bildung der Kohlehydrate gehemmt. so wären beim Studium des Eiweißstoffwechsels bei Kalimangelpflanzen ähnliche Wirkungen zu erwarten gewesen wie bei verdunkelten oder bei Lichtarmut gewachsenen Pflanzen, was nicht der Fall ist. Ein Serienversuch mit K-mangelndem verdunkelten Hafer, über den hier nicht weiter berichtet wurde, ließ bei solchen etiolierten Pflanzen keinen Unterschied im Gesamt-N-Gehalt und den N-Fraktionen zwischen voller Ernährung und K-Mangel erkennen. Gleichfalls dagegen spricht die Feststellung, daß gerade in sonnenscheinarmer Jahreszeit an unseren —K-Pflanzen das relative Verhältnis Eiweiß-N zu löslichem N stärker zugunsten des ersten verschoben war als im Frühjahr und im Sommer. Also mußten doch hier trotz ungünstigerer Assimilationsbedingungen bei K-Mangel hinreichend Kohlehydrate zum Aufbau der Eiweißkörper vorhanden gewesen sein. Vor allem aber ist nicht einzusehen, an welcher der Photosynthese entsprechenden Rolle das K bei chlorophyllfreien Heterotrophen beteiligt sein sollte, die in ihrer Entwicklung (11. Versuch) und in ihrem Stoffwechsel zumindest ebenso tiefgreifend beim Mangel des K-Ions gestört sind wie die höheren Pflanzen.

II. *Zur* Deutung der physiologischen Rolle des Kaliums.

Indem nun, wie im vorstehenden geschildert, die Frage, ob das Kalium im Eiweißstoffwechsel oder auch im Kohlehydratstoffwechsel

der Pflanze eine wesentliche direkte Rolle spiele, negativ entschieden werden mußte, so soll im folgenden versucht werden, aus den positiven Ergebnissen unserer Versuche eine einheitliche Vorstellung von der physiologischen Bedeutung des K-Ions für die Pflanze zu gewinnen. Vier Hauptpunkte unserer Beobachtungen an Kalimangelpflanzen müssen dazu in einen engeren Kreis der Betrachtung gerückt werden: Das gehemmte Wachstum; der höhere Trockensubstanzgehalt; der höhere Stickstoffgehalt und das Verhältnis des löslichen zum Eiweißstickstoff.

a) Das gehemmte Wachstum und der höhere Trockensubstanzgehalt der Mangelpflanzen als Folge von Entquellungsvorgängen.

Wie allgemein bekannt ist und auch aus einigen der hier gegebenen Tabellen hervorgeht, ist bei K-Mangel das Wachstum der Pflanze, d. h. die Erzeugung organischer Substanz, weitgehend gehemmt. Diese Erscheinung ist vermutlich letzten Endes auf eine Hemmung der Vorgänge bei der Kern- und Zellteilung (vgl. Reed) zurückzuführen. Für die Zellengröße der Kalimangelpflanzen lassen sich — ich habe auch verschiedentlich Blätter von *Tradescantia* und *Avena* untersucht — außerhalb der individuellen Schwankungen liegende Unterschiede nicht feststellen, wenn auch die ganzen Organe (Blätter) jener oft nicht die normale Größe erreichten.

Den Ausgangspunkt für unsere Betrachtung möge der Trockensubstanzgehalt bilden. Die Trockensubstanz der Blätter der Mangelpflanzen war übereinstimmend und konstant prozentual höher gefunden worden als bei voll ernährten. Das heißt, der Wassergehalt der Blattgewebe ist bei Mangel des K niedriger, die Pflanzen zeigen gleichzeitig unter gleichen Außenbedingungen einen gewissen Grad des Welkens, hervorgerufen durch einen zu großen Wasserverlust. Dafür spricht ihr schlaffes Aussehen, das leichte Vertrocknen der Blätter in nicht hinreichend wasserdampfgesättigter Luft und bei Besonnung. Für dieses Defizit in der Wasserbilanz kann nur ein Grund vorliegen: Die Pflanze vermag unter dem Einfluß des Mangels von $K^{\cdot}$ bzw. des dafür gebotenen $Na^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$, im Nährsubstrat im Verhältnis zum Wasserverbrauch bzw. zur Wasserabgabe des Sproßsystems nicht genug Wasser durch ihre Wurzeln aufzunehmen. Die Versuche von Hansteen-Cranner und von Kisser haben dieses Verhalten auch bereits überzeugend dargetan.

Wenn wir nun die Ergebnisse Kissers hier unseren weiteren Folgerungen zugrunde legen, daß bei jungen Weizenpflanzen das K-Salz die Wasseraufnahme durch die Wurzel erhöhte und die Wasserabgabe durch das Sproßsystem herabsetzte (gegenüber Pflanzen in destilliertem Wasser), das Ca-Salz sich gerade umgekehrt verhielt, während durch das Natriumsalz Wasseraufnahme und -abgabe gehemmt wurden, so muß

dieses gesamtphysiologische Verhalten der ganzen Pflanze auch in gewissem Sinne zellphysiologisch begründet sein. Wenn Wurzel und Sproß auch funktionell verschiedene und anders angepaßte Organe darstellen, so werden wir ihren einzelnen Zellen doch in ihrem Verhalten zu Salzen und Salzwirkungen gleiche Eigenschaften zuschreiben müssen. Ein Gegebenes wäre es nun, diese Fragen an Einzellern zu studieren, um die Wirkungen beispielsweise hier des K-Mangels an ihnen auch morphologisch oder zytologisch beobachten zu können. Doch stehen einer Kultur von ein- oder wenigzelligen Pflanzen unter den hier erforderlichen Bedingungen mannigfache Schwierigkeiten entgegen.

Während wir aus den eben erwähnten Gründen in der botanischen Literatur kaum einschlägige Untersuchungen finden, liegen hier von tierphysiologischer Seite wichtige Arbeiten vor, die sehr umfassenden Studien von Herbst und dann besonders die von Runnström, die geeignet erscheinen, zur Klärung unseres Problems wesentlich beizutragen. Herbst hatte gefunden, daß das Kalium im Seewasser für die Entwicklung von Seeigellarven unbedingt notwendig ist. In K-freiem Medium starben die Eier meist schon während der Furchung ab. Herbst schreibt dem K auf Grund seiner Beobachtungen und Messungen — im Anschluß an de Vries — „eine hervorragende Rolle bei der Aufnahme von Wasser seitens der urdarmbildenden Zellen des vegetativen Pols der Blastulae und der primären Leibeshöhle derselben“ zu. Doch läßt er es noch dahingestellt, ob das Ion direkt am osmotischen Druck der Zellen beteiligt ist oder indirekt auf die Durchlässigkeit der Membranen wirkt oder noch irgendwie anders die Wasseraufnahme beeinflußt. Des weiteren betont er, daß die Aufgabe des Kaliums auch noch in anderem als der Beeinflussung der Wasseraufnahme von außen bestehen kann, was aus der Tatsache hervorgeht, daß in *Echinus*kulturen die K-Zufuhr schon während der Furchung sich als notwendig erwies, wo keine Wasseraufnahme von außen stattfindet, was sich am Fehlen einer Volumenzunahme kundgibt.

In einer sehr eingehenden Arbeit hat dann weiterhin Runnström den Einfluß des K-Mangels auf das Seeigelei studiert. Wenn wir seine Hauptergebnisse kurz zusammenfassen, so ist es folgendes: Werden Seeigeleier aus normalem in K-freies Seewasser übertragen, so wird das Plasma in den Zellen visköser, seine Beweglichkeit nimmt ab. Die Zellen kontrahieren sich und nehmen an Volumen ab im Verhältnis zur Kontrolle. Die Quellbarkeit des Plasmas der Eier wird durch K-Mangel herabgesetzt; bei Erhöhung des K-Gehalts wird die Quellung der Eier sehr stark gefördert. Seine Beobachtungen deutet der Verfasser so: Das K kommt im Plasma zum großen Teil an Kolloide gebunden vor. Die Verbindung ist jedoch reversibel; wenn das Medium kein K enthält, diffundieren K-Salze aus den Zellen heraus, und das Gleichgewicht inner-

halb der Zelle wird gestört. Bei K-Mangel tritt in den Plasmakolloiden allmählich eine Herabsetzung der Dispersität und eine Entmischung ein, die sowohl die Eiweißbestandteile wie die Lipoide betrifft. Bei befruchteten Seeigeleiern in K-freiem Seewasser ist die Rückbildung der Chromosomen in der Telophase gehemmt. Der K-Mangel wirkt offenbar einer Erhöhung der Dispersität der die Chromosomen aufbauenden Substanzen entgegen. Das Kalium konnte nicht durch Na, noch auch durch radioaktive Stoffe (vgl. Zwaardemaker) ersetzt werden; Ca wirkte in höheren Konzentrationen dem K gegensinnig.

Seine Beobachtungen faßt Runnström kurz dahin zusammen: „Das K-Ion ist von entscheidender Bedeutung für die Wasserverteilung in der Zelle. Es wird bei K-Mangel Wasser aus den wasserärmeren Phasen des Plasmas ausgepreßt. Das Wasser wird auf diese Weise von den wasserärmeren nach den wasserreicheren Phasen verschoben. Dann folgt eine Wasserauspressung aus der Zelle als Ganzem, was zu einer Verminderung des Zellvolumens führt. Die durch Wasserauspressung gesteigerte Viskosität hemmt bei fortgeschrittener Wirkung des K-Mangels die Teilungsvorgänge."

Man wird nun nicht ohne weiteres die hier beobachteten Wirkungen des K-Mangels auf das ruhende oder sich entwickelnde Seeigelei auf die Zellen des reich differenzierten, luftangepaßten und photosynthetisch befähigten Sproßsystems einer höheren Pflanze, das wir hier hauptsächlich im Auge haben, übertragen können. Aber prinzipiell müssen wir aus unseren Ergebnissen das gleiche folgern, was Runnström beobachten konnte, Verminderung des Wassergehalts der Zellen bei K-Mangel und gehemmtes Wachstum, d. h. gehemmte Zellteilungsvorgänge.

Betrachten wir hierzu beispielsweise eine Mesophyllzelle aus dem Blatt einer höheren Pflanze. Wir können sagen, daß die morphologischen und physiologischen Eigenschaften und Zustände des aus Kolloiden aufgebauten Zytoplasmas, ebenso des Kernes und der Plastiden, durch die physikalischen und chemischen Eigenschaften dieser Kolloide bedingt sind. Von wesentlicher Bedeutung für den Zustand der Kolloide sind aber die im Zytoplasma und dessen Oberhautschichten vorhandenen und das Plasma umspülenden Elektrolyte. Ein Gleiches gilt für die Zellwand einer lebenden Zelle, soll sie ihren richtigen Gelzustand bekommen oder erhalten (Hansteen-Cranner, 1914).

Durch K-Mangel bzw. Vertretung des $K^{\cdot}$ durch $Na^{\cdot}$, $Ca^{\cdot\cdot}$, $Mg^{\cdot\cdot}$, in der den Zellen des Blattes von der Wurzel durch die Leitbahnen zuströmenden Nährlösung wird das optimale Elektrolytgleichgewicht in den Zellkolloiden gestört, es geraten, so folgern wir nach Runnström, Zytoplasma — nebst Kern und Plastiden — sowie die Zellwand in einen Zustand der Entquellung. Wenn wir unter Quellung die Flüssigkeits- bzw. Wasseraufnahme in die Intermizellarräume eines Gels verstehen, so wird

hier das Wasser aus den Zellkolloiden und schließlich der ganzen Zelle ausgepreßt, ein Eintritt von Wasser in die Zelle ist erschwert. Dem ausgepreßten Wasser ist natürlich der Weg der Verdampfung durch Interzellularen und Stomata frei. Durch diesen Wasserverlust werden die Zellen und Gewebe wasserärmer und trockensubstanzreicher, was sich aber noch nicht unbedingt in einer meßbaren Verkleinerung des Zellvolumens ausdrücken muß. Und was hier bezüglich der Blattzelle einer höheren Pflanze gesagt wurde, können wir im Prinzip auch von jeder anderen Pflanzenzelle, beispielsweise der Epiblem- oder Rindenzelle der Wurzel annehmen, wo die Verhältnisse wohl noch weniger kompliziert liegen, da die Wurzelgewebe — in unseren Versuchen wenigstens — im wässerigen Medium sich befinden.

Wenn wir versuchen wollen, eine Kausalanalyse dieser Vorgänge zu geben, so möchten wir vorerst die Annahme machen, daß ganz bestimmte Salz- bzw. Ionengemische für die normalen Stoffwechsel- und Lebensfunktionen überhaupt einer Zelle oder eines Organismus notwendig sind. Diese Salzionen stehen in physikalisch-chemischer Wechselbeziehung zur „lebenden Substanz", ihre Spezifität muß einstweilen als gegeben angenommen werden, wie etwa die Gesetzmäßigkeiten des Periodischen Systems oder der Organisation und Gestalt einer Pflanze. Da nun jeder Organismus ein kompliziertes „kolloides System" (vgl. Boas) darstellt, den Ionen der Neutralsalze für die Erhaltung oder Veränderung des kolloiden Zustandes — seit den Versuchen Hofmeisters über die Einwirkung von Salzen auf die Quellung sind diese Erscheinungen vielfach studiert worden — eine fundamentale Bedeutung zukommt, muß auch die lebenswichtige Bedeutung der Metallionen, die uns hier interessieren, wenn auch bei manchen nicht ausschließlich (z. B. dem Mg), so doch hauptsächlich im Zusammenhange mit ihrer Kolloidaktivität gesucht werden. Die Beobachtungen Hansteens, Runnströms u. a. weisen darauf hin, ebenso die systematischen Untersuchungen von Fitting und Kaho (1924), deren Ergebnisse und Folgerungen, soweit sie auf unser Problem Bezug haben, für die weiteren Betrachtungen grundsätzlich von wesentlicher Bedeutung sind. Aus Fittings Befunden ging schon klar hervor, daß die Salze der Alkalien und der Erdalkalien sehr verschieden schnell durch die Plasmahaut permeieren. Kaho fand, daß beim Eindringen der Neutralsalze in das Pflanzenplasma den Kationen eine koagulierende bzw. entquellende Wirkung auf die Biokolloide zukommt, die zur Verminderung der Permeabilität für die Salze führt. Diese beiden Wirkungen, die koagulierende und die Permeabilität vermindernde, verändern sich parallel und nehmen ab nach der lyotropen Reihe: $Ca > Ba > Mg > Li > Na > K$. Die Alkalisalze dringen sehr leicht in die Zelle ein, „in bezug auf die Plasmakolloide ist bei ihnen die peptisierende Wirkung der Anionen größer als die dehydratisierende der

Kationen, und infolgedessen werden die Plasmakolloide aufgelockert". „Die Salze der Erdalkalien, insbesondere die des Kalziums, dringen sehr schwer in die Zelle ein, wobei sie nach unseren Ansichten die Oberflächenschicht des Plasmas verdichten. Besonders wichtig ist die Tatsache, daß die Erdalkalien das Eindringen der anderen, dem Plasma schädlichen Salze verhindern." In dieser Darstellung ist also im Prinzip schon diejenige Erscheinung, die man unter dem physiologischen Ionenantagonismus versteht, enthalten. Die Ergebnisse von Kaho ergänzen die Runnströms noch dahin, daß natürlich in dem Seewasser nicht allein das Fehlen der relativ (im Verhältnis zu den übrigen Kationen der lyotropen Reihe) quellenden Wirkung des Kaliums, sondern die nun überwiegende entquellende Wirkung der anderen Kationen auf das Plasma des Seeigeleies sich geltend machte. Wie Kaho den lipoidartigen Stoffen der Oberflächenschichten des Plasmas bei der Aufnahme der Neutralsalzionen eine hervorragende Bedeutung beimißt, so denkt auch Runnström bei der Wirkung des Kaliums in ähnlicher Weise an die Eigenschaften der Plasmakolloide und an die analogen Eigenschaften der Alkaliseifen höherer Fettsäuren. Er „kann sich die Wirkung des K-Mangels gemäß dieser Auffassung so vorstellen, daß die Seifen bei K-Mangel als Na-, Mg- oder Ca-Verbindungen ihre emulgierenden oder lösungsvermittelnden Wirkungen verlieren, wodurch die genannten Veränderungen der Plasmakolloide erfolgen."

In gleicher Weise hatte auch schon Hansteen-Cranner (1914, S. 593) eine Äußerung Loebs über das Verhalten verschiedener Seifen zur Deutung seiner Versuche herangezogen. Hansteen hatte an künstlich hergestellten Membranen aus lipoidhaltiger Zellwandmasse die Wasseraufnahme und -abgabe im Beisein von Ca- und K-Ionen studiert. Stets nahmen die Membranen in Gegenwart von Ca viel weniger Wasser auf, gaben aber an trockener Luft mehr Wasser ab als solche, die mit K-(Na-)Ionen in Berührung waren. Diese isolierten Zellmembranen verhielten sich also genau so wie Pflanzenteile oder ganze Pflanzen.

Es steht hier nicht zur Diskussion, ob wir eine besondere lipoidhaltige Oberflächenschicht des Plasmas als an den Permeabilitätsvorgängen hauptsächlich beteiligt annehmen oder ob wir uns die Mechanik der Stoffaufnahme durch andere Gesetzmäßigkeiten geregelt denken (vgl. Ruhland und Hoffmann), die für uns wichtige Tatsache steht jedenfalls fest: Alkalisalze, das heißt das Kalium, befördern die Quellung der Plasmakolloide und damit die Wasser- und Salzaufnahme in die Zelle, Erdalkalisalze, das heißt das Kalzium, wirken genau gegensinnig. Beide, die Endglieder der lyotropen Reihe der Kationen, sind für die Pflanze unentbehrlich. Fehlt das eine in der Nährlösung, so überwiegt der dann schädliche Einfluß des Antagonisten. Im Einklang mit der lyotropen Reihe und dem daraus erkennbaren physiologischen Antagonismus der

Ionen ließ sich auch in unseren Versuchen stets unschwer erkennen, daß die Mangelerscheinungen bei Ersatz des K durch Ca stärker waren als bei Ersatz durch Na.

Wenn hier versucht wurde, das erhöhte Trockengewicht der Kalimangelpflanzen als Folge von Entquellungsvorgängen in den Zellkolloiden zu deuten, so möchte ich im Zusammenhang damit auf eine Beobachtung von Mothes (1932) hinweisen, der bei N-hungerndem Tabak gleichfalls erhöhte Trockensubstanz feststellen konnte, was jedoch dort — durch anatomische Daten augenscheinlich belegt — auf einer besonderen Kleinheit der Zellen und dadurch einer Vermehrung derZellwandmasse beruhte. In unseren Versuchen dagegen waren die Gewebe der frisch geernteten Pflanzen bei K-Mangel nicht in dem Maße wassergesättigt wie bei voller Ernährung, woraus der höhere Trockensubstanzgehalt folgt.

Anknüpfend an die Beobachtungen Runnströms darf zum Schluß noch kurz hingewiesen werden auf das gehemmte Wachstum bei K-Mangel, das im Grunde auf eine Hemmung von Kern- und Zellteilung (Reed) zurückzuführen ist, worauf schon hingewiesen wurde. Daß bei der Mechanik der Kernteilung — der Bildung von Chromosomen und Rückbildung dieser in das Chromatinnetz des Kernes — und bei der Zellwandbildung Quellungsvorgänge eine maßgebliche Rolle spielen, ist unzweifelhaft, aber im Hinblick auf Salzwirkungen kaum in den Anfängen erforscht. Doch ist es nach den Untersuchungen Runnströms sehr wahrscheinlich, daß bei diesen Vorgängen der Einfluß der Salzionen (des K und des Ca) von derselben grundsätzlichen Bedeutung ist.

b) Der höhere N-Gehalt.

Der Stickstoffgehalt ist in den im vorstehenden gegebenen Tabellen auf Frischgewicht bezogen; bei mehreren Reihen wurde auch noch gleichzeitig das Trockengewicht als Grundlage genommen. Die Bezugnahme auf das Frischgewicht der Pflanzen wurde aus praktischen Gründen vorgezogen, da nach der üblichen Methodik (Mothes 1926) zur Bestimmung der einzelnen N-Fraktionen diese bei Verarbeitung frischen Materials am zweckmäßigsten und bequemsten durchführbar ist. Doch läßt sich in unserem Falle ein genauer Vergleich für den N-Gehalt bei voller Ernährung und K-Mangel nur ermöglichen bei Bezugnahme auf Trocken- *und* Frischgewicht bzw. Wassergehalt der Gewebe. Die Blattfläche als Basis zu benützen ist wegen der Verschiedenheiten in der Dicke der Blätter (vgl. Tab. 13) weniger empfehlenswert (Gouwentak, Mothes 1931). Ohne weiter auf eine Diskussion der Bezugsgrößenfrage einzugehen — die Bezugnahme auf Trockengewicht bestätigte ja im wesentlichen die auf Frischgewicht, wenn auch die Frischgewichtswerte, wenn es auf einen genauen Vergleich ankommt, auf Trockengewicht reduziert werden müssen —, soll nur nochmals zusammenfassend betont werden,

daß den Kalimangelpflanzen in der Regel höherer Stickstoffgehalt eigen war als voll ernährten, ob auf Frisch- oder Trockengewicht bezogen. Dieses Ergebnis steht in vollem Einklang mit den Befunden anderer Forscher, die sich mit dieser Frage befaßten (s. o.).

Wenn wir nun nach der Ursache dieser Erscheinung fragen, müssen wir auch hier auf die in der Schilderung bereits im vorigen Abschnitt vorweggenommenen Ergebnisse von Kaho und Fitting zurückgreifen. Da der Stickstoff als $NH_4^{\cdot}$ oder NO_3^- aus dem Nährboden durch die Absorptionsgewebe der Wurzel von der Pflanze aufgenommen wird, ergäbe sich somit auf den ersten Augenblick die paradoxe Tatsache, daß beim Mangel des Kaliums bzw. Vorhandensein der anderen Metallionen, die in der lyotropen Reihe links vom K stehen, die Salz- bzw. Ionenaufnahme ($NH_4^{\cdot}$, NO_3^-) durch die Zellen (Kaho, Fitting) nicht, wie zu erwarten wäre, gehemmt, sondern gesteigert wird. Das ist aber nur scheinbar der Fall; die wahren Verhältnisse werden hier unseres Erachtens durch andere Tatsachen verdeckt, die in methodischen Schwierigkeiten begründet liegen. Dazu können die Versuche mit Pflanzen in Wasserkulturen wenigstens einen Anhaltspunkt bieten.

Die N-Aufnahme wird normalerweise von 2 Faktoren direkt abhängen: Der Konzentration der betreffenden anorganischen Salze im Nährboden und der Oberfläche — gleiche Beschaffenheit vorausgesetzt — des absorbierenden Systems der Wurzel. Die Salzkonzentration bzw. N-Menge war in unseren Versuchen, Voll- oder Mangelkultur, gleich, sie schaltet also bei der weiteren Betrachtung aus. Dagegen können wir nach den Beobachtungen anderer Forscher (Hansteen-Cranner, Pethybridge) wie nach eigenen schließen, daß die absorbierenden Wurzeloberflächen bei Vorhandensein oder Mangel gewisser Ionen in der Nährlösung ganz bedeutende Verschiedenheiten aufweisen. In den Versuchen Hansteens kam überzeugend zum Ausdruck, daß die Wurzelentwicklung und Wurzelhaarausbildung in Ca-haltigen Lösungen ganz ausgezeichnet waren (vgl. auch 6. und 7. Versuch), während Alkalisalze im Gegensatz dazu in gewisser Hinsicht hemmend wirkten. Es besteht somit kein Zweifel, daß die absorbierenden Oberflächen der Wurzeln der Kalimangelpflanzen zumindest ebenso groß, wenn nicht — je nach den sonstigen Bestandteilen der Nährlösung — oft bedeutend größer sind als die der Wurzeln voll ernährter. Man braucht z. B. nur an die Länge der Wurzelhaare und der Wurzelhaarzone zu denken. Im Verhältnis dazu ist natürlich die Sproßausbildung weitgehend gehemmt. Damit wäre (vgl. dazu die Gesamt-N-Durchschnittswerte einer Pflanze in Tab. 1, 2, auch Tab. 10) die trotz höheren N-Gehaltes der Sproßgewebe geringere NH_4 — bzw. NO_3 — Aufnahme der K-mangelnden bzw. überwiegend mit Na- oder Ca-Salzen ernährten Wurzeln verständlich gemacht; eine genauere Bestimmung der absorbierenden Wurzeloberfläche dürfte metho-

disch unmöglich sein. Das Wurzelfrischgewicht, auf das hier (6. und 7. Versuch) der Gesamt-N der ganzen Pflanzen bezogen wurde, stellt nur einen groben Nährungswert dar und ist für genaue Feststellungen aus Gründen, die aus dem eben Gesagten sich ergeben, unbrauchbar. Wir können also mit Sicherheit annehmen, daß die Wurzeln von Kalimangelpflanzen infolge der praevalierenden Wirkung der Erdalkaliionen weniger anorganischen N aufnehmen als die voll ernährter.

Den höheren N-Gehalt der Gewebe bei K-Mangel kann man sich etwa in folgender Weise zustandegekommen denken: Der durch die Wurzeln aufgenommene anorganische Stickstoff wird durch die Leitbahnen mit dem Transpirationsstrom dem Sproßsystem zugeführt. Da bei K-Mangel das Wachstum der Sproßorgane weitgehend gehemmt, das der Wurzeln meist nur in bestimmter Richtung verändert ist, so wird man annehmen dürfen, daß das Transpirationswasser in den Leitbahnen des Sprosses eine stärkere Konzentration an Nährsalzen besitzt trotz geringerer Salzaufnahme je Einheit der absorbierenden Wurzeloberfläche, und daß infolgedessen relativ mehr N in den Blättern von Kalimangelpflanzen angehäuft wird.

Die quantitativen Unterschiede im größeren Stickstoffgehalt der Kalimangelpflanzen bei Nitrat- und Ammonsalzernährung (4. Versuch, Tab. 5; auch 6. und 7. Versuch) könnten zwanglos darin ihre Deutung finden, daß das $NH_4^{\cdot}$, das in der lyotropen Kationenreihe neben oder noch vor das $K^{\cdot}$ zu stellen ist (vgl. Ruhland und Hoffmann, Mevius und Engel, Brauner), außerordentlich rasch zu permeieren vermag, während das NO_3^{-}, das unter den Anionen bezüglich seiner Permeierfähigkeit eine Mittelstellung einnimmt, wahrscheinlich mit geringerer Geschwindigkeit in die Zellen eindringt. Vielleicht ist in Wirklichkeit der Unterschied zwischen NH_4- und NO_3-Aufnahme auch nicht ganz so groß wie es hier erscheint. Durch unsere N-Bestimmungen wurde zwar sämtlicher reduzierter N in der Pflanze, der bei Ammonsalzernährung ja primär vorhanden ist, erfaßt, es wurden aber vielleicht bei nitraternährten Pflanzen gewisse Mengen in den Geweben vorhandenen Nitrates methodisch nicht mit erreicht.

Zusammenfassend kann man also sagen, daß der in der Regel höhere N-Gehalt der Kalimangelpflanzen sekundär zustande kommt infolge einer starken Hemmung des Sproßwachstums im Verhältnis zum Wurzelwachstum, die hervorgerufen wird durch Entquellungserscheinungen der Zellkolloide unter dem überwiegenden „antagonistischen“ Einfluß des Kalziums und des Natriums, obgleich dieselben Metallionen primär eine Hemmung der Salz- und wahrscheinlich gleichzeitig auch der Wasseraufnahme in die Zellen bewerkstelligen. Dadurch wird auch begreiflich, daß der höhere N-Gehalt kein unbedingtes Merkmal der Kalimangelpflanzen darstellt, sondern eine Begleiterscheinung, die von mancherlei Faktoren

abhängig ist, wie aus der Schilderung der einzelnen Versuche schon hervorging.

c) Das Verhältnis der N-Fraktionen.

Einen sehr wesentlichen Punkt unserer Ergebnisse stellt das jeweils gefundene relative Verhältnis zwischen Eiweiß- und löslichem N-Gehalt in Kalimangelpflanzen dar, das in der Regel zugunsten des löslichen N verschoben war. Ausschlaggebend dafür erscheinen zwei Momente: Einmal die Form des anorganischen N-haltigen Salzes und zweitens die äußeren Wachstumsbedingungen.

Was die Form anlangt, in welcher der Stickstoff der Pflanze zu Gebote steht, so ist schon oben ausgeführt worden, daß wir für das $NH_4^{\cdot}$ eine größere Permeierfähigkeit anzunehmen haben als für das $NO_3^{'}$. Das Ammonsalz wird also in dieser Hinsicht auch stärker zu einer Anhäufung von „löslichem N“ in den Geweben bei K-Mangel beitragen als das Nitrat, was deutlich in den Relativzahlen (Tab. 5) zum Ausdruck kommt, wenn man die Nitratpflanzen mit den Ammonpflanzen vergleicht. Der lösliche N ist wahrscheinlich überwiegend primärer Natur, d. h. nicht als ein Ergebnis proteolytischer Prozesse zu betrachten.

Nun konnten wir aber außerdem, wenn man z. B. die Nitratkulturen vergleicht (4. und 5. Versuch), in den Relativzahlen teils ein Überwiegen des Eiweiß-, teils des löslichen N feststellen. Ausschlaggebend dafür zeigten sich die äußeren Wachstumsfaktoren, die auf die Entwicklung der Pflanzen einwirkten, die Dauer und die Intensität der Belichtung und davon bis zu einem gewissen Grade abhängig die Temperatur und die Wasserdampfspannung der Luft im Gewächshaus. Bei trübem Wetter oder in lichtarmer Jahreszeit etiolierten die Pflanzen gewissermaßen, sie blieben in einem reicheren Wasserzustand. Die Temperaturschwankungen waren geringer, die Luftfeuchtigkeit ging im Extrem meist nicht unter 80 % herunter. Damit zusammenhängend bestand zwischen der Wasserabgabe der +K- und —K-Pflanzen durch Transpiration nicht jene große Spanne (vgl. auch Hansteen, Kisser) wie bei sonnigem Wetter, wo bei K-Mangel ein stärkeres Wasserdefizit zu erwarten ist.

Solche unter gleichmäßigen äußeren Bedingungen gewachsene Mangelpflanzen (5. Versuch) zeigen in der Regel schon die Unterschiede im Gesamt-N-Gehalt zu den voll ernährten Pflanzen nicht in dem Ausmaße wie gleiche Pflanzen, die bei reichlich Licht und in weiteren Grenzen schwankender Temperatur und ebenfalls stärker schwankenden Feuchtigkeitsverhältnissen der Luft gezogen worden waren. Ihr hervorstechendstes Merkmal jedoch ist es, daß sie bei absolut etwa gleichem Gehalt an löslichem N einen höheren Eiweißgehalt aufweisen als die gleichen Kulturen bei voller Ernährung (Tab. 6), d. h., daß das relative Verhältnis Eiweiß-:löslichem N zugunsten jenes verschoben ist. Daß diese

Tatsache sowohl gegen die Anschauung, daß das K eine besondere Rolle bei der Synthese der Eiweißstoffe spiele, wie auch gegen eine solche spricht, wonach ihm eine spezifische Bedeutung bei der Synthese der Kohlehydrate zukomme, ist schon erwähnt worden.

Wenn wir nun im Vergleich dazu die Versuchsreihen betrachten (4. Versuch, Nitratreihe), denen während des Wachstums reichlicher Sonne zur Verfügung stand, die infolge größerer Temperaturschwankungen und auch höherer mittlerer Temperatur sehr oft einer relativ trockenen Luft (im Extrem bis 40 %) ausgesetzt waren, so zeigt sich bei den Kalimangelpflanzen neben absolut meist ebenfalls höheren Eiweißgehalt relativ jedoch ein oft starkes Überwiegen der N-haltigen Körper, die wir als „löslichen N" zusammenfassen. Dieses Ergebnis ist nun vermutlich so zu deuten, daß infolge eines besonders in den Mittagsstunden bei den empfindlicheren Mangelpflanzen sehr stark einsetzenden Wasserdefizits ein Zustand hochgradigen Welkens eintrat, wodurch die eiweißabbauenden Fermentsysteme aktiviert wurden.

Ich möchte hier ähnliche Feststellungen von Mothes (1931) zum Vergleich heranziehen. Dieser fand bei welkenden Blättern gegenüber turgeszenten durchgehend eine Steigerung der Proteolyse. Er bezeichnet es als „nicht ausgeschlossen, daß unter dem Einfluß des Wassermangels eine Vermehrung oder besser eine Aktivierung der Proteasen einsetzt". Er diskutiert des weiteren 4 Möglichkeiten, wie man sich diese Aktivierung etwa vorstellen könnte. Ich möchte hier nur noch darauf hinweisen, daß in unseren Versuchen grundsätzlich dieselben Bedingungen gegeben sind wie in welkenden Blättern, daß also die Erscheinung des prozentual höheren Gehalts an löslichem N nicht als eine direkte Folge des K-Mangels aufzufassen ist, sondern als eine des durch diesen bewirkten zeitweise sehr starken Wasserentzuges, wobei die Außenfaktoren maßgebend beteiligt sind. Der hier auftretende lösliche N könnte also als vorwiegend sekundärer Natur angesprochen werden. Die hier beschriebene Erscheinung konnte sowohl bei Nitrat- wie bei Ammonnitraternährung festgestellt werden.

III. Ausblick.

Im obigen ist versucht worden, wenigstens im Umriß — manche Einzelheiten werden noch einem eingehenderen Studium unterworfen werden müssen, als es mir hier möglich war — eine Deutung der hier gemachten Beobachtungen an Kalimangelpflanzen im Hinblick auf die physiologische Rolle des Kaliums überhaupt zu geben. Auf Grund unserer Versuche kann nochmals zusammenfassend gesagt werden, daß sich alle hier an unter verschiedenen Bedingungen gewachsenen Pflanzen bei K-Mangel beobachteten Erscheinungen grundsätzlich auf Erfahrungen der Zellphysiologie zurückführen und nach physikochemischen Gesichts-

punkten deuten lassen. Es wurde kein Anhaltspunkt dafür gefunden, daß die Bedeutung des Metalls als Pflanzennährstoff in noch anderen Beziehungen zu suchen sei als in jener fundamentalen, das Reaktionsmedium der Stoffwechselprozesse, d. h. den Quellungszustand der Biokolloide im Verein mit den Antagonisten (dem Ca), optimal zu gestalten oder zu erhalten.

Zum Schluß möchte ich noch einiges mir wichtig Erscheinendes bemerken. In der Einleitung ist schon erwähnt worden, daß ältere Autoren (Nobbe, Wilfarth und Wimmer u. a.) bei K-Mangel einen Stärkeschwund (vgl. auch Remy und Liesegang, S. 224) aus den Chloroplasten beobachteten; neuere Arbeiten (Hartt, Janssen und Bartholomew) dagegen erwiesen neben meist geringeren Stärke- einen höheren Zuckergehalt für Kalimangelpflanzen. In diesem Zusammenhang muß auch auf Versuche hingewiesen werden (Doby und Hibbard, D. und Kertész, Hartt), in denen bei Kalimangelpflanzen (Penicillium, Zuckerrübenblättern und Zuckerrohr) größere Aktivität von Saccharase, Diastase usw. gefunden wurde.

Das gibt den erwähnten Befunden Nobbes, der natürlich nur das Verschwinden der Stärke feststellte, möglicherweise eine Deutung dahingehend, daß die verschwindende Stärke bei K-Mangel hydrolysiert wurde und sich in Form von Zuckern in den Blättern fand, die er mikrochemisch nicht nachwies.

Ganz analoge Ergebnisse, die mir wegen ihres Ausgangspunktes vom Wasserhaushalt gerade für die Kalimangelpflanzen von Bedeutung zu sein schienen, zeitigten Arbeiten, die meist von ökologischen Fragen ausgingen. Molisch, Schroeder, Ahrns konnten bei welkenden Blättern übereinstimmend Stärkeabbau und Zuckeranreicherung feststellen. Diese Beobachtung würde als eine Parallele zu den vorhin erwähnten Ergebnissen von Mothes (1931) zu betrachten sein. Andere Autoren (Iljin, Weber, Strugger und Weber, Schmetz), die den Einfluß von K- und Ca-Salzen auf den Stärkeabbau in Mesophyll- und Schließzellen studierten, heben gleichfalls übereinstimmend die den Stärkeabbau im Mesophyll fördernde Wirkung der Ca-Salze hervor, während das K sich meist umgekehrt verhält.

Inwieweit alle diese Erscheinungen und Prozesse mit dem Kaliumproblem bzw. der damit verbundenen Frage der Wassersättigung kausal verknüpfbar sind, läßt sich zur Stunde noch nicht aussagen. Aber daß im Kohlehydratstoffwechsel bezüglich der Fermentwirkungen ähnliche Beziehungen bestehen, wie es hier für die Proteine wahrscheinlich gemacht werden konnte, unterliegt für mich kaum einem Zweifel.

Eine einfache direkte Beziehung des Kaliums zum Mechanismus der Photosynthese, wie sie etwa Stoklasa behauptet, ist wohl nicht anzunehmen. Wenn er seine Anschauung durch Modellversuche zu belegen

versucht (1910), so ist dagegen einzuwenden (auch Kniep hat in anderem Zusammenhange schon ähnlich darauf hingewiesen), daß die Pflanze nur mit Hilfe des Chlorophylls im Lichte die Kohlensäure zu assimilieren vermag. Der Chlorophyllfarbstoff ist in seiner Befähigung dazu zweifellos an seine Verteilung im kolloidalen Medium des Chloroplasten gebunden; auch ist es in vitro ja noch nicht gelungen, mit Hilfe des Chlorophylls „künstliche" Photosynthese herbeizuführen. Aber es wäre auch noch keineswegs ein Beweis für eine Beteiligung des K-Ions an der Synthese der Kohlehydrate, wenn diese bei K-Mangel gehemmt wäre, was noch sehr umstritten ist. Fanden doch, wie schon erwähnt, Gaßner u. Goeze eine Erhöhung der Assimilationsgröße für Weizenblätter von Kalimangelpflanzen. Dieser Befund zeigt erst die Kompliziertheit der ganzen vorliegenden Frage. Doch werden alle diese Fragen noch einer genaueren Prüfung zu unterwerfen sein. Ob, um dieses schließlich noch zu erwähnen, die vielfach hervorgehobenen radioaktiven Eigenschaften der Kaliums irgend einen Einfluß auf die Photosynthese oder sonstige Stoffwechselvorgänge ausüben, wäre noch nachzuweisen, erscheint jedoch noch recht problematisch.

Eine besondere Bedeutung wird das in der vorliegenden Untersuchung von einer Seite beleuchtete Problem für das Studium ökologischer Fragen haben können (vgl. Mothes, 1932). Solche weiteren Untersuchungen werden auch zeigen können, wieweit sich praktische Folgerungen aus unseren Ergebnissen ableiten lassen, vor allem im Hinblick auf Resistenzfragen.

D. Zusammenfassung.

1. Kalimangelnde Pflanzen zeigen allgemein ein gehemmtes Wachstum. Für die Wurzeln höherer Pflanzen in Nährlösung scheint dies nur mit gewissen Einschränkungen zu gelten.

2. Höhere Pflanzen besitzen bei K-Mangel prozentual mehr Trockensubstanz bzw. geringeren Wassergehalt in ihren Geweben.

3. Die Blätter höherer Pflanzen weisen auf die Einheitsmenge Frisch- oder Trockengewicht bezogen bei K-Mangel in der Regel höheren Stickstoffgehalt auf als voll ernährte.

4. Dieser höhere Stickstoffgehalt resultiert aus der erhöhten Menge des löslichen, wie der gewöhnlich ebenfalls erhöhten des Eiweiß-N. Doch ist der lösliche N in der Regel relativ stärker daran beteiligt als der Eiweißstickstoff.

5. Das Verhältnis der N-Fraktionen zueinander erweist sich als weitgehend abhängig davon, ob der Stickstoff in der Nährlösung als Nitrat oder Ammonsalz geboten wurde, sowie von den äußeren Wachstumsbedingungen, wie Besonnung, Temperatur und Wasserdampfspannung der Luft.

6. Die hier geschilderten Erscheinungen bei K-Mangel sind erheblich stärker ausgeprägt, wenn das Kalium in den Nährsalzen durch Kalzium, als wenn es durch Natrium ersetzt wird.

7. Es wurde versucht, alle hier gemachten Beobachtungen an Kalimangelpflanzen auf bekannte physikalisch-chemische Tatsachen und Erfahrungen über die Kolloidaktivität der Neutralsalze zurückzuführen. Es spricht nichts dagegen, daß die fundamentale physiologische Bedeutung des Kaliums hauptsächlich darin zu suchen ist, im Zusammenwirken mit den übrigen Salzionen, besonders der Erdalkalimetalle, den für die Stoffwechselprozesse und sonstigen Funktionen des Organismus optimalen Gelzustand der Biokolloide zu erzeugen oder zu erhalten.

Die vorliegende Arbeit wurde in den Jahren 1930—1932 im botanischen Institut der Universität Marburg (Lahn) ausgeführt. Meinem verehrten Chef, Herrn Prof. Dr. P. Claussen, sowie der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft danke ich auch an dieser Stelle herzlichst für alle mir gewährten Unterstützungen.

Literaturverzeichnis.

Ahrns, W., Weitere Untersuchungen über die Abhängigkeit des gegenseitigen Mengenverhältnisses der Kohlenhydrate im Laubblatt vom Wassergehalt. Bot. Archiv, **5**, 1924.

Benecke, W., Die zur Ernährung der Schimmelpilze notwendigen Metalle. Pringsh. Jahrb. **28**, 1895.

Derselbe, Die von der Cronesche Nährsalzlösung. Ztschr. f. Bot. **1**, 1909.

Derselbe, Stoffwechsel der Pflanzen. Handwörterb. d. Naturw. **9**, 1913.

Derselbe und Jost, L., Pflanzenphysiologie I. 4. Aufl., Jena, 1924.

Blackman, V. H., Radio-activity and Normal Physiological Funktion. Ann. of Bot. **34**, 1920.

Boas, F., Die Pflanze als kolloides System. Naturw. u. Landwirtsch., H. **14**, 1928.

Bodnar, J., Beiträge zur biochemischen Wirkung des Kaliumions. Stoklasa-Festschrift, Berlin (P. Parey), 1928.

Boresch, K., Die anorganischen Bestandteile. Handb. d. Pflanzenern. u. Düngung (Hrsg. F. Honcamp), Berlin, 1931.

Brauner, L., Untersuchungen über die Elektrolytpermeabilität und Quellung einer leblosen natürlichen Membran. Pringsh. Jahrb. **73**, 1930.

Briggs, G. E., The characteristics of subnormal photosynthetic activity resulting from deficiency of nutrient salts. Proc. Roy. Soc. of London S. B. **94**, 1923.

Burgerstein, A., Die Transpiration der Pflanzen. Jena 1904—1925.

Burrell, R. C., Effect of certain deficiences on nitrogen metabolism of plants. Bot. Gazette **82**, 1926, II.

Chibnall, A. Ch., Diurnal Variations in the total nitrogen content of foliage leaves. Ann. of Bot. **37**, 1923.

Cholodnyj, N., Zur Frage über die Beeinflussung des Protoplasmas durch mono- und bivalente Metallionen. Beih. z. Botan. Zentralbl. **39**, 1923.

Czapek, F., Biochemie der Pflanzen, Bd. 2, 2. Aufl., Jena 1920.

Doby, G. und Hibbard, R. P., Verhalten, insbesondere Ionenaktivierung von Pflanzenenzymen in Abhängigkeit von der Ernährung. II. Über die Saccharase kalihungriger Zuckerrüben. Biochem. Ztschr. **178**, 1926.

Doby, G. v. und Kertész, Z. J., Enzyme und Salzionen. I. Saccharase kalihungrigen Penicilliums. Hoppe-S. Ztschr. f. physiol. Chem. **189**, 1930.

Dowding, E. S., The regional and seasonal distribution of potassium in plant tissues. Ann. of Bot. **39**, 1925.

Ehrenberg, P., Das Kalk-Kali-Gesetz. Landw. Jahrb. **54**, 1920.

Engel, H., Beiträge zur Kenntnis des Stickstoffumsatzes grüner Pflanzen. Planta **7**, 1929.

Englis, D. T. and Lunt, H. A., Effect of the concentration of potassium salts in soil media upon the carbohydrate metabolism of plants. The diastatic activity of the Nasturtium. Soil sc. **20**, 1925.

Fitting, H., Untersuchungen über die Aufnahme von Salzen in die lebende Zelle. Pringsh. Jahrb. **56**, 1915.

Gassner, G. und Goeze, Untersuchungen über die CO_2-Assimilation K-mangelnder Pflanzen. Ber. d. D. bot. Ges. **50a**, 1932.

Gassner, G. und Hassebrauk, K., Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Mineralsalzernährung und Verhalten der Getreidepflanzen gegen Rost. Phytopathol. Ztschr. **3**, 1931.

Gouwentak, C. A., Untersuchungen über den N-Stoffwechsel bei Helianthus annuus L. Rec. des trav. bot. néerl. **26**, 1929.

Gregory, F. G. and Richards, F. J., Physiological studies in plant nutrition I. The effect of manurial deficiency on the respiration and assimilation rate in barley. Ann. of Bot. **43**. 1929.

Hansteen, B., Ueber Verhalten der Kulturpflanzen zu den Bodensalzen. I und II. Pringsh. Jahrb. **47**, 1910.

Hansteen-Cranner, B., Desgleichen III. Beiträge zur Biochemie und Physiologie der Zellwand lebender Zellen. Ebenda **53**, 1914.

Hartt, C. E., Potassium deficiency in sugar cane. Bot. Gazette **88**, 1929.

Heinrich, H., Ueber die Wirkung des Natrons neben dem Kali als Nährstoff der Pflanzen. Ztschr. f. Pflanzenern. A **10**, 1927/28.

Herbst, C., Ueber die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und ihre Vertretbarkeit. Arch. f. Entw.-Mech. **17**, 1904.

Hoeber, R., Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. 6. Aufl. Leipzig 1926.

Hofmeister, F., Zur Lehre von der Wirkung der Salze. 5. Mitteil. Untersuchungen über den Quellungsvorgang. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **27**, 1890.

Derselbe, desgl. 6. Mitteil. Die Beteiligung gelöster Stoffe an Quellungsvorgängen. Ebenda **28**, 1891.

Huber, B., Transpiration in verschiedener Stammhöhe. I. Sequoia gigantea. Ztschr. f. Bot. **15**, 1923.

Iljin, W. S., Standortsfeuchtigkeit und Zuckergehalt in den Pflanzen. Planta **7**, 1929.

Derselbe, Der Einfluß des Welkens auf den Ab- und Aufbau der Stärke in der Pflanze. Ebenda **10**, 1930.

Derselbe, Ursache der Resistenz von Pflanzenzellen gegen Austrocknen. Protoplasma **10**, 1930.

Jakob, K., Die Rolle des Kaliums beim Aufbau der Kohlehydrate. Ztschr. f. angew. Chem. **41**. 1928.

James, W. O., Studies on the physiological importance of mineral elements in plants I. The relation of potassium to the properties and functions of the leaf. Ann. of Bot. **44**, 1930.

Derselbe, desgl. II. Potassium: its distribution, movement and relation to growth in the potato. Ebenda **45**, 1931.

Janssen, G. and Bartholomew, R. P., The translocation of potassium in tomato plants and its relation to their carbohydrate and nitrogen distribution. Journ. Agric. Res. Washington **38**, 1929.

Dieselben, The influence of the potash concentration in the culture medium on the production of carbohydrates in plants. Ebenda **40**, 1930.

Jegorow, M. A., Pflanzenernährungsfragen. Charkow 1923. Ref. Bot. Centralbl. **145**, 1924.

Johnston, E. S. and Hoagland, D. R., Minimum potassium level requiret by tomato plants grown in water cultures. Soil Sc. **27**, 1929.

Kaho, H., Über die physiologische Wirkung der Neutralsalze auf das Pflanzenplasma. Acta et Commentationes Univ. Dorpat, A, V. 1924.

Derselbe, Das Verhalten der Pflanzenzelle gegen Salze. Erg. d. Biol. **1**, 1926.

Keegan, P. Q., Notes on plant chemistry. Lime and potash. The Chem. News **106**, 1912.

Kiesel, A., Chemie des Protoplasmas. Protopl.-Monogr. IV, Berlin 1930.

Kisser, J., Untersuchungen über den Einfluß der Nährsalze auf die Wasserabgabe, Wasseraufnahme, relative Sproß- und Wurzelmasse und die Blattstruktur. I und II. Planta **3**, 1927.

Kostytschew, S. und Eliasberg, B., Über die Form der Kaliverbindungen in lebenden Pflanzengeweben. Hoppe-S. Ztschr. f. physiol. Chemie **111**, 1920.

Kostytschew, S., Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. I. Berlin 1926. II. Berlin 1931.

Krüger, W. und Wimmer, G. und Mitarbeiter, Ernährungsverhältnisse, Anbau, Düngung und Krankheiten der Zuckerrübe. Mitt. d. Anhalt. Vers.-Stat. Bernburg, **60—65**, 1927.

Lepeschkin, W., Kolloidchemie des Protoplasmas. Monogr a. d. Gesamtgebiet der Physiol. d. Pflanzen u. d. Tiere **7**, Berlin 1924.

Lloyd, F. E., The cobalt sodium hexanitrite reaction for potassium in plant cells. Flora **118—119** (Goebel-Festschr.) 1925.

Loeb, J., Über die Entgiftung von Kaliumsalzen durch Salze von Calcium und anderen Erdalkalimetallen. Bioch. Ztschr. **32**, 1911.

Loew, O., Über die physiologischen Funktionen der Calcium- und Magnesiumsalze im Pflanzenorganismus. Flora **75**, 1892.

Lüpke, R., Über die Bedeutung des Kaliums in der Pflanze. Landw. Jahrb. **17**, 1888.

Lundegardh, H., Die Nährstoffaufnahme der Pflanzen. Jena 1932.

Mevius, W., Die Wirkung der Ammoniumsalze in ihrer Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. Planta **6**, 1928.

Derselbe und Engel, H., desgl. Planta **9**, 1930.

Derselbe und Dikussar, J., Nitrite als Stickstoffquellen für höhere Pflanzen. Pringsh. Jahrb. **73**, 1930.

Mitscherlich, E. A., Methodik der Versuche in Vegetationsgefäßen und auf Versuchsfeldern. Handb. biol. Arb.-Meth. Abt. XI, T. 2, 1924.

Mittelstaedt, O., Über die Funktion des Kalis bei dem Assimilationsvorgange im Pflanzenorganismus. Ref. Chem. Centralblatt **67**, II, 1896.

Molisch, H., Über den Einfluß der Transpiration auf das Verschwinden der Stärke in den Blättern. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. **39**, 1921.

Mothes, K., Ein Beitrag zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. Planta **I**, 1926.

Derselbe, Die Wirkung des Wassermangels auf den Eiweißumsatz in höheren Pflanzen. Ber. d. Dtsch. bot. Ges. **46**, 1928.

Derselbe, Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen (3. Beitrag). Planta **12**, 1931.

Derselbe, Ernährung, Struktur und Transpiration. Biol. Zentralblatt **52**, 1932.

Muenscher, W. C., The effect of transpiration on the absorption of salts by plants. Americ. Journ. of Bot. **9**, 1922.

Nightingale, G. T., Schermerhorn, L. G. and Robbins, W. R., Some effect of potassium deficiency of the histological structure and nitrogenous and carbohydrate constituents of plants. New Jers. Agric. Exp. Stat. Bull. **499**, 130.

Nobbe, F., Schroeder, J. und Erdmann, R., Über die organische Leistung des Kalium in der Pflanze. Mittl. a. d. physiol. Vers.-Stat. Tharand, Chemnitz 1871.

Pantanelli, E., Über Ionenaufnahme (Sammelreferat). Protoplasma **7**, 1929.

Parker, F. W. and Truog, E., The relation between the calcium and the nitrogen content of plants and the function of calcium. Soil Sc. **10**, 1920.

Penston, N. L., Studies of the physiological importance of the mineral elements in plants. III. A study by mikrochemical methods on the distribution of potassium in potato plant. Ann. of Bot. **45**, 1931.

Pethybridge, G. H., Beiträge zur Kenntnis der Einwirkung der anorganischen Salze auf die Entwicklung und den Bau der Pflanzen. Diss. Göttingen 1899.

Pfeffer, W., Pflanzenphysiologie I. Leipzig 1897.

Pirschle, K., Zur physiologischen Wirkung homologer Ionenreihen. Pringsh. Jahrb. **72**, 1930, ebenda **76**, 1932.

Derselbe und Mengdehl, H., Ionenaufnahme aus Salzlösungen durch die höhere Pflanze. Ebenda **74**, 1931.

Prát, S., und Minassian, B., Über die Stickstoffaufnahme und Wasserabgabe bei Moosen. Protoplasma **5**, 1929.

Prianischnikow, D. N., Ammoniak, Nitrate und Nitrite als Stickstoffquellen für höhere Pflanzen. Erg. d. Biol. **1**, 1926.

Reed, H. S., The value of certain nutritive elements to the plant cell. Ann. of Bot. **21**, 1907.

Derselbe, The effect of certain chemical agents upon the transpiration and growth of whead seedlings. Bot. Gazette **49**, 1910.

Remy, Th., und Liesegang, H., Untersuchungen über die Rückwirkungen der Kaliversorgung auf Chlorophyllgehalt, Assimilationsleistung, Wachstum und Ertrag der Kartoffeln. Landw. Jahrbücher **64**, 1926.

Rubinstein, D. L., Das Problem des physiologischen Ionenantagonismus (Sammelreferat). Protoplasma **4**, 1928.

Rüdiger, W. R., Gleichgewicht von Kalium und Stickstoff im Torf, Wasser und Alluvium. Biochem. Zeitschr. **215**, 1929.

Ruhland, W., und Hoffmann, C., Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. Ein Beitrag zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Planta **1**, 1926.

Runnström, J., Über den Einfluß des Kaliummangels auf das Seeigelei. Publ. della Staz. Zool. di Napoli **6**, 1925.

Sabalitschka, Th. und Wiese, A., Das Verhalten des Kalis vor und bei dem herbstlichen Absterben der Blätter von *Populus nigra* und *hedera helix*. Ztschr. f. Pflanzenernähr. A **7**, 1926.

Schaffnit, E. und Lüdtke, M., Beiträge zur Kenntnis von Kältewirkungen auf die pflanzliche Zelle II. Über den Stoffwechsel landwirtschaftlicher Kulturpflanzen bei verschiedenen Temperaturen und wechselnder Ernährung. Phytopathol. Zeitschrift **4**, 1932.

Schaffnit, E. und Volk, A., Über den Einfluß der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Parasiten. I. Teil. — Forschungen auf dem Gebiet der Pflanzenkrankheiten und der Immunität im Pflanzenreich. 3. Heft, Jena 1927.

Dieselben, Beiträge zur Kenntnis der Morphologie und Physiologie verschieden ernährter Pflanzen. Landw. Jahrb. **67**, 1928.

Schimper, A. F. W., Zur Frage der Assimilation der Mineralsalze durch die grüne Pflanze. Flora **48**, 1890.

Schmalfuss, K. und Mothes, K., Über die fermentative Desamidierung durch *Aspergillus niger*. Bioch. Ztschr. **221**, 1930.

Schmalfuss, K., Über die Rolle des Kaliums im Stoffwechsel der Pflanze. Fortschr. d. Landw. **6**, H. 16, 1931.

Schmetz, L., Untersuchungen über den Einfluß einiger Außenfaktoren auf den Stärkeabbau in Laubblättern. Bot. Archiv, **10**, 1925.

Seybold, A., Die pflanzliche Transpiration I, II. Erg. d. Biol. **5**, 1929, **6**, 1930.

Smirnow, A. J. und Mitarbeiter, Über die biochemischen Eigentümlichkeiten des Alterns der Laubblätter. Planta **6**, 1928.

Smirnow, D. S., Über die Aufnahme von Ca und K durch die Pflanze. Jour. f. Landw. Wiss. Moskau, **3**, 1926.

Smith, T. O. and Butler, O., Relation of potassium to growth in plants. Ann. of Bot. **35**, 1921.

Stocker, O., Das Halophytenproblem. Erg. d. Biol. **3**, 1928.

Stoklasa, J. und Zdobnicky, W., Photochemische Synthese der Kohlenhydrate aus Kohlensäureanhydrid und Wasserstoff in Anwesenheit von Kaliumhydroxyd, in Abwesenheit von Chlorophyll. Sitz.-Ber. d. k. Akad. d. Wiss. Math.-Nat. Kl. Wien **119**, II, b, 1910.

Stoklasa, J. und Mitarbeiter, Beiträge zur Kenntnis der Ernährung der Zuckerrübe. Physiologische Bedeutung des Kaliumions im Organismus der Zuckerrübe. Jena 1916.

Stoklasa, J., Ueber die Abhängigkeit der Resorption des Kaliumions von der Gegenwart des Natriumions im Organismus der Zuckerrübe. Bioch. Ztschr. **73**, 1916.

Derselbe, Ist das Kaliumion an der Eiweißsynthese in der Pflanzenzelle beteiligt? Ebenda **73**, 1916.

Derselbe, Die physiologische Bedeutung des Kaliums in der Pflanze. Ebenda **82**, 1917.

Strugger, S. und Weber, F., Stärkeabbau in Mesophyll- und Schließzellen. Ber. d. D. bot. Ges. **43**, 1925.

Szolnoki, J., Radioaktivität, Lichtelektrizität und Kaliwirkung. Ern. d. Pflanze **26**, 1930.

Tobler, F., Der Einfluß des Kaliums auf die Bildung der Faserzellwand bei Faserpflanzen. Ztschr. f. Pflanzenern. A **13**, 1929.

Derselbe, Zur Kenntnis der Wirkung des Kaliums auf den Bau der Bastfaser. Pringsh. Jahrb. **71**, 1929.

Volk, A. und Tiemann, E., Zur Anatomie verschieden ernährter Pflanzen. Forschg. a. d. Geb. d. Pflanzenkrankh. (Schaffnit). H. **3**, Jena 1927.

Vries, H. de, Eine Methode zur Analyse der Turgorkraft. Pringsh. Jahrb. **14**, 1884.

Walter, H., Plasmaquellung und Wachstum. Ztschr. f. Bot. **16**, 1924.

Derselbe, Der Wasserhaushalt der Pflanze in quantitativer Betrachtung. Naturwiss. u. Landw. H. **6**, 1925.

Derselbe, Die Anpassungen der Pflanzen an Wassermangel. Ebenda H. **9**, 1926.

Weber, F., Zur Physiologie der Spaltöffnungsbewegung. Oesterr. bot. Ztschr. **72**, 1923.

Weevers, Th., Untersuchungen über die Lokalisation und Funktion des Kaliums in der Pflanze. Rec. des Trav. Bot. Néerl. **8**, 1911.

Derselbe, Die physiologische Bedeutung des Kaliums in der Pflanze. Biochem. Ztschr. **78**, 1917. Ebenda, **89**, 1918.

Wiessmann, H., Über den Einfluß des Kaliums auf die Entwicklung der Pflanzen und ihren morphologischen und anatomischen Bau bei besonderer Berücksichtigung der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. Ztschr. f. Pflanzenern. A **2**, 1923.

Wilfarth, H. und Wimmer, G., Die Wirkung des Kaliums auf das Pflanzenleben, nach Vegetationsversuchen mit Kartoffeln, Takak, Buchweizen, Senf, Zichorie und Hafer. Arbd. D. L. G. H. **68**, 1902.

Dieselben, Die Kennzeichen des Kalimangels an den Blättern der Pflanzen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. **13**. 1903.

Wolff, E., Aschen-Analysen von landwirtschaftlichen Produkten, Fabrikabfällen und wildwachsenden Pflanzen. Berlin, I. 1871; II. 1880.

Zwaardemaker, H., Die Bedeutung des Radiums im Organismus. Pflüg. Arch. f. d. ges. Physiol. **173**, 1919.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Münster i. Westf.

Beiträge zur Morphologie und Physiologie des bakteriellen Pflanzenkrebserregers.

Von

Karl Schätzel.

Eingegangen am 31. Mai 1932.

Inhaltsübersicht: Einleitung. — Morphologie und Stoffwechsel der *Pseudomonas tumefaciens*. — Die Sternchen- oder Rosettenbildung und ihre vermutliche Bedeutung. — Die Frage nach filtrierbaren Gonidien. — Tumoren an Pflanzen mit Milchröhren *(Euphorbia)*. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung.

In den letzten Jahren hat die Lehre von dem Pleomorphismus der Bakterien bei zahlreichen Forschern wieder großen Anklang gefunden. Deutscherseits ist besonders Löhnis (1921) für die Richtigkeit dieser Theorie eingetreten. Daß ein solcher Pleomorphismus auch beim Erreger des bakteriellen Pflanzenkrebses vorliegen soll, ist von Lieske (1928 und 1929) behauptet worden.

Bekanntlich konnten Smith und Townsend (1907) aus *Chrysanthemum*-Tumoren ein Bakterium züchten, das bei Übertragung auf andere Pflanzen den typischen bakteriellen Krebs wieder hervorrief. Sie nannten den Erreger *Bacterium tumefaciens*. 1920 hat dann Smith eingehend über die morphologischen und physiologischen Eigenschaften dieses Bakteriums berichtet.

Die dort erwähnten Eigenschaften des Pflanzenkrebserregers konnten mit geringer Abweichung immer wieder von zahlreichen Forschern bestätigt werden. Es sei auf die Ausführungen von Walkden (1921), Stapp (1927) und Rosen (1926) verwiesen.

Von Interesse ist die Ansicht von d'Hérelle (1922) und d'Hérelle und Peyre (1927), nach denen die Kulturen von *Pseudomonas tumefaciens* auf Agar, die von den Bakteriologen beschrieben werden, symbiontische Mischkulturen sein sollen, die neben den *Pseudomonas*-Stäbchen noch Bakteriophagen enthalten. Diese Mischkulturen seien allein infektionsfähig. Daneben kommen nach ihren Untersuchungen noch „ultra-reine" Kolonien auf Agar vor, die nicht unter dem Wachstum hemmenden Einfluß der Bakteriophagen stehen und sich darum avirulent zeigen sollen. Ich selbst gehe auf die Bakteriophagenfrage nicht ein. (Vgl. dazu Israilsky [1926], Brown und Quirk [1929], Kauffmann [1929]).

Lieske konnte bei der Isolierung der Bakterien aus menschlichen und tierischen Krebstumoren Kokken, Streptokokken, kürzere oder längere Stäbchen beobachten, die er nicht für verschiedene Arten, sondern für Zyklusformen im Sinne Löhnis (1921) hält. Bemerkenswert ist nach ihm das Verhalten des Krebserregers in Milch, der hier in Form von „filtrierbaren, ultravisiblen Gonidien" vorkommen soll, während die Stäbchenform in diesem Medium verschwindet. Ich komme auf diese Frage sowie auf die eigenartigen Sternchenbildungen, die Lieske ebenso wie Löhnis für Kopulationsstadien hält, auf Grund eigener Untersuchungen noch zu sprechen. Weiter hat Lieske bei der Isolierung der Bakterien aus den Tumoren auch Gram positive Stämme erhalten, desgleichen beobachtete er gelegentlich auch den Übergang von Gram negativen zu Gram positiven Stäbchen.

Die Annahme Lieskes, daß *Pseudomonas tumefaciens* in den verschiedensten Formen auftreten kann, bezweifelt Kauffmann (1929). Im gleichen Jahre hat Israilsky (1929) den Erreger des Pflanzenkrebses untersucht, der ebenfalls die Richtigkeit der Schlüsse, die Lieske aus dem bakteriologischen Befund der Milchkulturen zieht, in Zweifel stellt, da er in der beimpften Milch mikroskopisch Stäbchen nachweisen konnte. Ebenso macht er auf die Sternchenbildung aufmerksam. Ferner gelang ihm der Nachweis der „Dissoziation" bei *Pseudomonas tumefaciens*, einer Erscheinung, die bei den einzelnen Sippen verschieden stark entwickelt sein soll. „Die einen bildeten auf Fleisch-Pepton-Gelatine und -Agar glatte Kolonien mit glatten Rändern, die anderen zeichneten sich dadurch aus, daß die Kolonien sehr bald faltig wurden". Sippen, welche diese Unterschiede zeigten, sollen sich auch physiologisch verschieden verhalten. 1930 geht er näher auf diese Beobachtungen ein. Aus demselben Jahre liegen noch Arbeiten vor, die sich mit dem gleichen Bakterium beschäftigen, so die von Riker, Banfield, Wright, Keitt und Sagen (1930) und von Wright, Hendricksen und Riker (1930). Sie teilen die Spezies „*tumefaciens*" nochmals unter, indem sie mit *Bact. tumefaciens* den Erreger der „*crown-galls*" bezeichnen, während *Bact. rhizogones* die „*hairy-root*"-Bildung veranlaßt. Beide Sippen unterscheiden sich durch einige physiologische Merkmale. Eigenartigerweise sagen die Autoren (l. c. p. 544), daß der Erreger der *crown-galls* unbeweglich sei im Gegensatz zu dem polar begeißelten *hairy-root*-Organismus. Von dem Übergang der Bakterien in ultravisible Gonidien ist nicht die Rede.

Die Frage nach der Bildung von Säuren aus Zuckerarten ist verschieden beantwortet worden. Smith hat hierüber Angaben veröffentlicht, die sich teilweise widersprechen. Walkden und Stapp berichten, daß *Pseudomonas tumefaciens* Säure zu bilden vermag, während Chambers (1925) sagt, daß Dextrose von dem Pflanzenkrebserreger nicht zu organischen Säuren abgebaut werden kann. Lieske nimmt an, daß ein Säurebildungsvermögen wohl vorhanden, aber nicht konstant sei.

Morphologie und Stoffwechsel der *Pseudomonas tumefaciens*.

Meine erste Aufgabe war es, Morphologie und Physiologie des Pflanzenkrebserregers nochmals zu untersuchen und besonders zu den Ergebnissen Lieskes Stellung zu nehmen.

Ich benutze drei von der Sammlung Král in Wien gelieferte Stämme:

Stamm I, *Pseudomonas tumefaciens* Bernkastel, von Lieske aus der Geschwulst eines Bernkasteler Weinstocks reingezüchtet,

Stamm II, *Pseudomonas tumefaciens* Lieske and Smith,

Stamm III, ein Stamm, dessen Herkunft ich nicht ermitteln konnte.

Nach Impfversuchen an *Helianthus annuus*, *Nerium Oleander* und *Euphorbia helioscopia* (vgl. Seite 270 ff.) sind diese virulent.

Das Wachstum der drei Stämme auf Fleischextrakt-Pepton-Agar (nach Arthur Meyer) gleicht vollkommen den Beschreibungen Smiths und denen anderer Autoren: Nach zwei Tagen waren weiche, feucht glänzende, etwas erhabene, durchscheinende Kolonien mit glatter Oberfläche herangewachsen. Dagegen konnte ich nicht beobachten, daß sich Stamm I auf Agar zu „fest zusammenhängenden, zähen, fast knorpeligen, stark gefalteten" Massen entwickelt, wie Lieske angibt; vielmehr zeigten die Kulturen dieses Stammes während zweier Jahre stets dasselbe eben geschilderte Aussehen wie die anderen Stämme.

Nach Lieskes Angaben soll *Pseudomonas tumefaciens*, wenn sie eine Milch- und nachfolgende Malzgelatinepassage durchgemacht hat und dann in Agarstichkulturen untersucht wird, zur Anaërobiose neigen, d. h. in den Agar hineinwachsen. Mir ist es trotz genauer Befolgung der Lieskeschen Maßnahmen nie gelungen, derartige Veränderungen zu beobachten.

Um die von Israilsky und Starygin beschriebenen Dissoziationserscheinungen bei *Pseudomonas tumefaciens* zu studieren, untersuchte ich das Wachstum meiner Stämme auf Agargußplatten: Jeder Stamm zeigt hier zweierlei Kolonien, was darauf beruht, daß die „Keime" beim Gießen der Platten verschieden tief zu liegen kommen. Zu unterst sind kleine, spindelförmige, gelbliche Kolonien zu finden, während der Agaroberfläche größere, runde, etwas blassere Kolonien aufsitzen. Wenn die erstgenannten durch ihr Wachstum der Agaroberfläche näherkommen, entstehen durchsichtige Kolonien, die von derselben Art sind wie die eben an zweiter Stelle genannten. Alle Kolonienformen besitzen glatte Ränder. Von jedem der drei Stämme wurden acht Platten gegossen, auf denen diese Koloniearten heranwuchsen. Weiter wurden wieder je drei Platten von beiden Koloniearten hergestellt, und es zeigte sich nach einigen Tagen, daß aus jeder Kolonieart beide wieder hervorgehen konnten. Somit war es mir nicht möglich, „Dissoziationserscheinungen" zu beobachten.

Ein gutes, aber weniger charakteristisches Wachstum wie auf Nähragar ist in Pepton-Bouillon (nach Arthur Meyer) zu beobachten. Sie ist nach einigen Tagen schwach getrübt und trägt an ihrer Oberfläche ein kräftiges oft gefaltetes Häutchen, das sich als eine Art braun-gelber Zoogloea erwies; an ihrer Stelle zeigen sich in ganz jungen Kulturen kugelige Zoogloeen, die zu „sprossen" vermögen. Durch ständige Neubildung solcher Zoogloeen und weiter durch Anlagerung und „Sprossung" derselben dürfte das Häutchen entstanden sein.

Was ich über das Wachstum des Pflanzenkrebserregers auf Nähragar und Pepton-Bouillon berichtet habe, gilt auch für Laktose-, Glukose-, Glyzerin- und Ca-Malat-Agar; auch diese Nährböden gewähren *Pseudomonas tumefaciens* gute Wachstumsbedingungen. Es entstehen hier dicke, schleimige weißliche Kulturen, während auf Stärkeagar eine Entwicklung unterbleibt.

Als guter Nährboden eignet sich ferner „Krebsagar" nach Lieske. Schon nach 4 Tagen sind die Kulturen auf ihm zu einem dicken, schleimigen, weißligen Belag herangewachsen; dann beginnt eine Bräunung des Bakterienausstrichs am oberen Rande des Schrägagars sichtbar zu werden, die sich innerhalb 12 Tagen über den ganzen Agar erstreckt. Lieske bezeichnet dieses Nährmedium als „selektiv wirkenden Spezialagar", der sich besonders bei der Isolierung des Krebserregers aus den Tumoren bewähren soll. Ich versuchte, auch andere Bakterien aus unserer Institutssammlung auf Krebsagar zu ziehen. Ebenso gut wuchsen auf Krebsagar *Bac. carotarum*, *co-*

haerens, mesentericus und *oxalaticus.* Es folgten dann in weitem Abstand *Bact. coli, Sarc. lutea, Bac. sphaericus, mycoides, Ellenbachensis* und *Azotobacter chroococcum.* Ein sehr schwaches, eben merkliches Wachstum zeigten die Kulturen von *Bact. prodigiosum, Bac. subtilis* und *tumescens.* Wie zu erwarten, besitzen auch andere Bakterienstämme die Fähigkeit, sich auf Krebsagar zu kräftigen Kulturen zu entwickeln; seine „spezifische" Wirkung ist dadurch bedingt, daß auf ihm nur solche Bakterien gedeihen, die Glyzerin als C-Quelle und KNO_3 als N-Quelle auszunutzen vermögen. Seine Eignung zur Isolierung der *Pseudomonas tumefaciens* ist offenbar darin begründet, daß anspruchsvolle Bakterien etwa solche, die Pepton usw. benötigen, auf ihm nicht als störende Verunreinigungen auftreten.

Um nun den Wert verschiedener N-Quellen vergleichend zu ermitteln, verwendete ich Krebslösung nach Lieske, aber ohne KNO_3-Zugabe als Stammlösung, und setzte ihr folgende N-Quellen zu: KNO_3, $(NH_4)_2SO_4$ oder Pepton, und zwar je 0,5 %. Einige Reagierröhrchen wurden ohne Stickstoffverbindungen angesetzt und enthielten die einfache Stammlösung. Diese wurden dazu benutzt, um zu sehen, ob *Pseudomonas tumefaciens* ohne gebundenen Stickstoff zu gedeihen vermag. Da ihr Wachstum auch von der Reaktion des Nährmediums abhängig ist, wurden die Röhrchen dieser vier Versuchsreihen mit verschiedenen pH-Werten angesetzt. Tabelle 1 zeigt das Ergebnis. Aus ihr geht hervor, daß organisch gebundener N (Pepton) besser ausgenutzt werden kann als anorganische N-Salze, deren Anwesenheit aber noch ein gutes Wachstum ermöglicht. Die Kulturen ohne N-Zugabe waren eben getrübt; ob diese Trübung ein Anzeichen mäßiger Bindung des atmospbärischen Stickstoffs oder auf schwer zu entfernende Verunreinigungen zurückzuführen ist, muß zweifelhaft bleiben (s. Israilsky 1929 und Schröder 1931, S. 191). Der verschiedene pH-Wert der Kulturen äußerte sich nur in den ersten Tagen, und zwar ergaben die neutralen und schwach sauren Kulturen ein besseres Wachstum als die schwach alkalischen. Später glichen sich diese Unterschiede aus. Die am Schluß der Versuche bestimmten pH-Werte lassen bei KNO_3-Zugabe eine Abnahme der H-Ionenkonzentration erkennen. Umgekehrt ist es bei den Kulturen mit $(NH_4)_2SO_4$-Zugabe. Ferner lehrt die Tabelle, daß die Pepton-Kulturen ihre Reaktion nach der sauren Seite hin verschoben hatten; offenbar sind aus dem Glyzerin mehr saure Produkte entstanden, als zur Neutralisierung des aus dem Pepton abgespaltenen NH_3 erforderlich waren[1]).

Weitere Versuche sollten das Säure- und Gasbildungsvermögen bei Gegenwart verschiedener Zuckerarten prüfen. Ich verwendete Pepton-Bouillon als Stammlösung und gab zu dieser folgende Zuckerarten (je 1 %): Saccharose, Maltose, Laktose, Glukose, Galaktose und als höheren

[1]) Über das Wachstum von *Pseudomonas tumefaciens* in Nährlösungen mit verschiedenem Ausgangs-pH siehe auch Colley (1931).

Tabelle 1.

N-Quelle	Wachstum nach 14 Tagen	pH der Kontrollröhrchen	pH der Kulturen
I. KNO_3	gut	6,2 7,9 8,1	8,8 9,5 8,9
II. $(NH_4)_2SO_4$	weniger gut	5,9 6,8 7,7	5,0 5,9 6,5
III. Pepton	am besten	5,9 7,5 8,6	5,6 6,8 7,0
IV. Ohne N	am schlechtesten	6,1 7,8 8,6	6,5 7,7 8,1

Alkohol Mannit. Die Reaktion der Nährlösungen war neutral. Einigen von ihnen gab ich umgestülpte kleine Röhrchen zu, derart, daß ihr zugeschmolzenes Ende nach oben gerichtet und vollkommen mit Nährlösung angefüllt war. Als Vergleichsnährmedien dienten einfache Pepton-Bouillon und Malz-Gelatine-Nährlösung nach Lieske. Alle Stämme wurden auf diese Nährböden geimpft, außerdem *Bact. coli* und *prodigiosum* auf Malz-Gelatine-Nährlösung. Nach vier Tagen machte sich starke Gasbildung nur in den Kulturen bemerkbar, die mit *Bact. coli* beimpft waren; das umgestülpte Röhrchen hatte eine große Gasblase aufgefangen. Als die Versuchsreihe nach 23 Tagen abgebrochen wurde, zeigte sich noch immer dasselbe Bild. Jetzt wurden die Kulturen mit Hilfe von Indikatoren auf Säurebildung untersucht. Doch konnte ich keine wesentliche Verschiebung nach der sauren Seite hin nachweisen mit Ausnahme der *Bact. coli*-Kulturen, deren pH bis auf 4,5 gesunken war. Vielleicht ist das Ergebnis dieser Versuchsreihe damit zu erklären, daß die drei *Pseudomonas tumefaciens*-Stämme schon älteren Datums sind, also nach Lieske ihr Säurebildungsvermögen verloren haben könnten.

Gehen wir nun auf das mikroskopische Bild ein:

Auf Nähragarkultur zeigen sich Stäbchen, deren Länge zwischen 1 bis 3 μ, deren Breite zwischen 0,4 bis 0,7 μ[1]) schwankte. Granulierte Bakterien und solche mit Polkörperchen sind häufig zu finden, desgleichen Involutionsformen (Y-Formen und Bakterien mit warzenförmigen Auswüchsen). Die Gramfärbung[2]) verlief negativ. Gut gelang die Geißelfärbung bei *Pseudomonas tumefaciens* I nach der Methode von Peppler[2])

[1]) Smith gibt die folgenden Werte an: 0,6 bis 1 $\mu \times$ 1,2 bis 1,5 μ.

[2]) Nach Lehmann-Neumann (1926).

und der von Luca Valenti[1]) und bestätigte die schon bekannte Tatsache, daß *Pseudomonas tumefaciens* polar begeißelt ist. Die Höchstzahl der an einem Stäbchen gefundenen Geißeln war drei.

Bezüglich der Kalziummalatkulturen ist noch zu sagen, daß hier die Bakterien bedeutend länger und dicker sind als sonst. So konnte ich bei den einzelnen Stämmen folgende Längenwerte messen:

Stamm I: 2—8 μ; Stamm II: 2—8 μ; Stamm III: 2—11 μ.

Weiter besitzen die Stäbchen im Innern grobkörnige Granula, die sich sehr gut mit Karbolgentianaviolett[1]) oder Karbolfuchsin[1]) färben lassen, während der eigentliche Bakterienleib ungefärbt bleibt.

Die Rosetten- oder Sternchenbildung und ihre vermutliche Bedeutung.

Ich wende mich jetzt der Frage nach der Bedeutung der schon erwähnten „Rosetten"- oder „Sternchen"-Bildung zu. Diese eigenartige Zusammenlagerung der Bakterienzellen, die z. B. bei Hefferan (1902), Jones (1905), Lieske (1928) gut abgebildet ist, wurde von Beijerinck (1890) bei *Bact. radicicola* und *radiobacter*, von Hefferan bei *Bac. rosaceus metalloides*, von Jones für einen Vibrio und endlich von Lieske und Israilsky für *Pseudomonas tumefaciens* nachgewiesen. Lieske erhielt diese Sternchen, wenn er von 5 Tage alten Milchkulturen auf Malzextrakt-Gelatine-Nährlösung überimpfte. Ebenso bin auch ich bei meinen Versuchen verfahren: Schon nach 9—12 Stunden waren die Sternchen nachzuweisen. Diese Sternchenbildung ist aber keineswegs von der Milchpassage abhängig, wie man aus den Lieskeschen Arbeiten entnehmen muß; sondern sie zeigt sich auch nach Überimpfung von Agar in Malzextrakt-Gelatine-Nährlösung. Die Kulturen waren schwach getrübt und entwickelten ein zartes Häutchen, das mit der Zeit an Festigkeit und Dicke zunahm. Besonders zahlreich sind die Sternchen in diesem Häutchen oder an seinem Rand zu finden, während sie in tieferen Schichten der Kultur seltener vorkommen[2]). Die Zahl der an einem Sternchen beteiligten Bakterien ist großen Schwankungen unterworfen (drei bis sehr viele). Betrachtet man ein solches Sternchen einige Zeit im Mikroskop, so fällt auf, daß frei umherschwärmende Bakterien auf das Zentrum desselben losschießen, sobald sie in seine Nähe kommen. Hier bleiben sie dann oft, weil sich anscheinend ihre Geißeln mit denen des Sternchens verfangen, wodurch das neu hinzugekommene Stäbchen fest mit den übrigen verankert wird. Häufig jedoch löst sich auch das neu hinzugetretene Stäbchen nach einigen Sekunden los, um seine Bewegung wieder aufzunehmen. Diese Erscheinung, die vielleicht auf Chemotaxis beruht, könnte zur Erklärung des Zustandekommens eines solchen Sternchens beitragen. Somit ist es wahrscheinlich, daß die Sternchenbildung auf dem Zusammentreten vieler Bakterienzellen

[1]) Nach Lehmann-Neumann (1926).

[2]) Löhnis (1905) findet Sternchen von *Bact. radiobacter* im Bodensatz der Kulturen.

beruht, die dann mit ihren Geißeln verkleben, im Gegensatz zu der von Hefferan durch sorgfältige Dauerbeobachtung einer anderen Spezies gewonnenen Anschauung, daß die Sternchen durch Teilung einer Zelle mit nachfolgender radialer Gruppierung ihrer Descendenz zustande kommen.

Das Innere der Sternchen ist sowohl im lebenden als auch im einfach gefärbten Präparat leer. Erst bei Anwendung von Geißelfärbmethoden nach Luca Valenti gelang es mir, eine Färbung des inneren freien Teils der Sternchen zu erhalten, und es zeigte sich, daß die Geißeln der Bakterien nach innen liegen, und daß hier eine schleimige Verklebung derselben untereinander stattgefunden hat. Hiernach sind die verklebten Geißeln für die feste Verbindung der einzelnen Bakterien von *Pseudomonas tumefaciens* zu solchen Sternchen verantwortlich zu machen. So konnte der Befund von Jones (1905) bestätigt werden, die schon damals für die Sternchen eines kommaförmigen Wasserbakteriums berichtete, „that the single polar flagellum of an organism is pointed toward an unseen centrum". Ein ähnliches Ergebnis hatten Färbungen nach Peppler. Hierbei trat aber der sonst ungefärbte zentrale Teil des Sternchens deutlich gefärbt — punktförmig — hervor.

Welche Nährmedien besitzen nun die Fähigkeit, *Pseudomonas tumefaciens* zur Sternchenbildung zu veranlassen? Malz-Gelatine-Nährlösung habe ich schon genannt; in ihr ist diese Erscheinung bei Zimmertemperatur und bei 30° gleich gut zu beobachten. Licht ist ohne Einfluß. Desgleichen konnte ich sie in 2 %-iger Malzextraktlösung nachweisen und erhielt dadurch die Gewißheit, daß der Gelatinegehalt des Mediums nicht die Ursache für die Verklebung der Geißeln ist. Die Sternchen wurden seltener in Bouillon, Krebslösung und im Kondenswasser von Fleischextrakt-Pepton-Agarkulturen gefunden, während es mir nicht gelungen ist, sie auf irgendeinem festen Nährboden nachzuweisen. Somit ist die Qualität des Nährmediums von Bedeutung, da ja besonders Malzextrakt, und zwar noch in ziemlich starker Verdünnung (0,25 %), für die Bildung der Sternchen von Vorteil ist. Welche Stoffe die Sternchenbildung begünstigen, wird sich nicht leicht entscheiden lassen. Nährlösungen mit Maltose als C-Quelle erwiesen sich als ungeeignet.[1]) Ich stellte sodann noch einige Dauerbeobachtungen der Sternchen im hängenden Tropfen sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 30° unter Verwendung eines elektrisch geheizten Objekttisches an. Was die Lebensdauer der Bakterien in solch einem Präparat betrifft, so schwärmten sie bis zum letztenTag der Beobachtungen, die sich oft über einen Zeitraum von 14 Tagen erstreckten. All diese Versuche endigten mit demselben Ergebnis: Ein Verschwinden der Sternchen über ein sog. „Symplasma"-Stadium oder sonstige

[1]) Im allgemeinen dürfte die Sternchenbildung durch polare Begeißelung begünstigt werden. Wie ich fand, können aber auch *Bact. prodigiosum*, *coli* und *Bac. mesentericus* auf Malzgelatinelösung in geringem Maße Sternchenbildung zeigen.

Veränderungen, von denen Lieske berichtet, habe ich trotz zahlreicher Beobachtungen nie nachweisen können. Auch waren in gefärbten Präparaten von über einen Monat alten Kulturen nur normale Sternchen aufzufinden. Weiter war es mir sehr oft möglich, bei Beobachtung eines eben eingestellten Bakterienpräparates Bakterienteilungen in den Sternchen zu verfolgen. Jedes Stäbchen kann dann wieder nach voraufgegangener Teilung zu seiner alten Länge heranwachsen und sich abermals teilen, indem nach Bildung der Querwand die neu entstandene Tochterzelle sich losreißt und lebhaft zu schwärmen beginnt. Diese Zellabschnürung hörte in meinen Präparaten nach zwei Tagen ganz auf, es blieb ein Sternchen aus ziemlich kleinen Bakterien bestehend übrig, an denen weiterhin keinerlei Lebensäußerungen wahrzunehmen waren. Eine gute Möglichkeit der Beobachtung bietet der Tropfenrand des Präparates, der eine leichte Orientierung gestattet und zugleich den Stäbchen eine gute O_2-Versorgung gewährleistet.

Welche biologische Bedeutung kommt der Sternchenbildung zu? Während die früheren Arbeiten diese Frage unbeantwortet ließen, sieht Löhnis in ihnen kopulierende Bakterien, und Lieske hat sich später dieser Meinung angeschlossen.[1]) Ich selbst kann auf Grund meiner Beobachtungen eine solche Auffassung zwar nicht widerlegen, halte es jedoch für wahrscheinlicher, daß wir es hier mit einer Erscheinung zu tun haben, die mit der Häutchenbildung in Zusammenhang steht und sie erleichtert. Wie schon erwähnt, sind die Sternchen fast nur im Häutchen zu finden. Mikroskopiert man weiter einen Teil desselben, so ist nachzuweisen, daß es aus einer Unmenge von Sternchen besteht; sie stellen eine Art „Gerüst“ dar, in dem die Stäbchen des einen Sternchens mit denen eines anderen zusammenstoßen. Der Sinn dieses Verhaltens ist meiner Meinung nach wohl darin zu suchen, daß diese Sternchenmasse eine gute Durchlüftung des Häutchens und der Kultur gewährleistet. Außerdem hat das einzelne Stäbchen den Vorteil einer besseren Umspülung der Nährlösung. Für diese Deutung der Sternchen scheint manches zu sprechen. Zur vollen Klärung sind jedoch weitere Untersuchungen erforderlich.

Die Frage nach filtrierbaren Gonidien.

Wir kommen zur Frage nach dem Vorkommen filtrierbarer, ultravisibler Gonidien und behandeln zuerst die Erfahrungen, welche Lieske an Milchkulturen machte, um uns erst dann den eigentlichen Filtrationsversuchen zuzuwenden.

---

[1]) In ihrer nach dem Abschluß meiner Untersuchungen erschienenen Arbeit kommen Stapp und Bortels (1931) zu dem Ergebnis, daß die Sternchenbildung nicht auf Geißelverklebung, sondern auf der Bildung von Plasmabrücken beruhe, die vielleicht als Vorstufe einer Kopulation zu deuten sei.

Nach Lieske soll der Pflanzenkrebserreger, wenn er auf Milch übergeimpft wird, in diesem Medium bald nicht mehr mikroskopisch nachweisbar sein, sondern sich in Form von ultravisiblen Gonidien darin vorfinden. „Läßt man beimpfte Milchröhrchen bei zirka 30° stehen, so findet man nach einigen Tagen kaum noch lebende Bakterienstäbchen. Aus Wochen oder Monate alten Röhrchen kann man zuweilen 100 Ösen untersuchen, ohne ein einziges Stäbchen zu finden.“ Die hypothetischen ultravisiblen Gonidien sollen dann beim Weiterimpfen auf irgendein Nährmedium dort wieder das Wachstum normaler Stäbchen veranlassen.

Um dieses schon von Israilsky bezweifelte Ergebnis nachzuprüfen, verfuhr ich so: Von zwei Tage alten Fleischextrakt-Pepton-Agrarkulturen impfte ich auf Vollmilch über, die an drei aufeinanderfolgenden Tagen im strömenden Dampf sterilisiert worden war. Diese Milchkulturen wurden nach Beimpfung bei 30° aufbewahrt und nach fünf Tagen untersucht. Nahm ich Proben direkt von der Oberfläche der Milch, so fand ich die Bakterien in großen Mengen, die teilweise lebhaft im Präparat umherschwärmten. Volle Platinösen aus den unteren Partien der Milchkulturen enthielten keine oder kaum Bakterien, die, wenn sie vorhanden waren, nur Brownsche Molekularbewegung zeigten. Meiner Meinung nach hängt dieser Befund damit zusammen, daß die Milch in den Röhrchen nach kurzer Zeit an ihrer Oberfläche eine dicke Rahmschicht abscheidet und daß *Pseudomonas tumefaciens* als aërober Mikroorganismus oberhalb dieser Fettschicht die besten Wachstumsbedingungen vorfindet. Ließ ich die Röhrchen einen Monat lang bei 30° stehen, so fand ich die Bakterien immer noch lebend und beweglich vor; ein Verschwinden dieser Mikroorganismen in Milch, wie Lieske es gefunden hat, habe ich nicht beobachten können. Die Bakterien lassen sich in Milch auch durch Färbemethoden nachweisen; Israilsky hatte schon mit gutem Erfolg Löfflers Methylenblau angewendet. Ich selbst ließ angetrocknete Ausstrichpräparate vier bis fünf Stunden in Aceton stehen, bei Nachbehandlung mit Methylenblau oder Karbolgentianaviolett erhielt ich einigermaßen gute Bakterienpräparate. So hatte ich den Nachteil vermieden, daß die Färbung durch Fetttröpfchen allzu sehr beeinträchtigt wurde. Auch in Magermilchkulturen, die zum Vergleich herangezogen wurden, ließen sich Bakterien noch nach langer Zeit nachweisen.

Die drei Stämme verhielten sich mikroskopisch gleich, während ihre Kulturen makroskopisch sich in verschieden starker Pigmentbildung, worauf schon Lieske und besonders Israilsky hinweisen, ferner in der Größe der „Serumzone“ [1]) unterscheiden. Letztere ist ein klarer, gelblich gefärbter Ring an der Oberfläche der Kultur, der dadurch zustande kommt, daß nach der Koagulation der Eiweißkörper diese zu Boden sinken. Die Pigmentbildung zeigt sich in einer Bräunung der koagulierten Eiweißmassen, die bei Stamm I nur geringfügig war, bei Stamm II und III aber bis zur dunkelbraunen Tönung führte. Ferner zeigte Stamm II keine

[1]) Siehe dazu auch Wright und Mitarbeiter (1930).

Ringbildung, während die der beiden anderen Stämme verschieden stark ausgeprägt war.

Wenn somit *Pseudomonas tumefaciens* entgegen Lieske und im Einklang mit Israilsky in Milch keineswegs als mikroskopisch sichtbares Stäbchen verschwindet, so muß gleichwohl nach den oben mitgeteilten Erfahrungen die Frage noch offen bleiben, ob filtrierbare, ultravisible Gonidien gebildet werden. Ich ging nunmehr daran, diese Frage nach den „filtrierbaren“[1]) Gonidien beim Pflanzenkrebserreger mittels Filtrationsversuchen nachzuprüfen.

Bekanntlich hat Löhnis (1916, 1921, 1922) die Existenz filtrierbarer, oft an der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit stehender Entwicklungsstadien bei den Bakterien angenommen. „Viele Gonidien, besonders unter den von den kleinen Bakterienformen produzierten, sind so winzig, daß sie die Bakterienfilter anstandslos passieren können. Dieses Verhalten eröffnet in zwei Richtungen interessante Einblicke . . . Einerseits können diese kleinsten Gonidien, da sie sich unbeschränkt vegetativ vermehren können, als filtrierbare Gonidien in Frage kommen; andererseits können sie in absterbende oder in abgestorbene pflanzliche und tierische Zellen eindringen und hier zur Neubildung von Bakterien Veranlassung geben.“

Welche Rolle in der medizinisch-bakteriologischen Literatur Kontroversen über filtrierbare, an der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit liegende oder „ultravisible“ Entwicklungsstadien — zum Teil auch z. B. beim Tuberkulose-, Typhus-, Enteritis-, Influenza-, Diphterie-Erreger, ferner bei Streptokokken in wenig ansprechender Weise als Bakteriensplitter oder „fragments“ usw. bezeichnet — spielen, soll hier nicht ausgeführt werden. Bekannt ist ferner, daß man bei zahlreichen Infektionskrankheiten tierischer und pflanzlicher Organismen keine sichtbaren Erreger, sondern nur „filtrierbare Vira“ kennt. Auch von botanisch-bakteriologischer Seite ist dieses Gebiet der Mikrobiologie öfter bearbeitet worden, jedoch meistens ohne befriedigende Ergebnisse[2]). 1923 machte Miehe, der mit de Haenschen Membranfiltern arbeitete, darauf aufmerksam, daß *Azotobacter chroococcum* filtrierbare Entwicklungsstadien auszubilden fähig ist (siehe auch Melin 1922). Im Gegensatz zu solchen Angaben stehen andere, die für vollkommene Sterilität von Flüssigkeiten, die in geeigneter Weise filtriert wurden, eintreten. Der Effekt wird naturgemäß immer von der Qualität des Filters abhängen. 1891 hat Bitter den Nachweis geführt, daß Filtrate von Blutserum und Milch vollkommen steril sind (bei Benutzung von Kieselgur- und Chamberlandkerzen); die gleichen Beobachtungen machten von Esmarch (1902) und Cano (1909) bei der Filtration verschiedener Medien. Nur *Spir. parvum* besitzt nach von Esmarch wegen seiner geringen Größe (0,1 bis 0,5 $\times$ 1 bis 3 μ) die Fähigkeit, Berkefeldfilter zu passieren.

1927 erschien die Arbeit von d'Hérelle und Peyre, in welcher sie angeben, daß Bakteriophagenwirkung bei *Pseudomonas tumefaciens* die Erscheinung der „infravisiblen, filtrierbaren Form“, der sogenannten „forme protobactérienne“, hervorzurufen vermag, die wieder zu normalen Bakterien heranwachsen kann. Dieses Stadium soll auch in Pflanzentumoren vorkommen. Zu dieser Annahme kamen sie deshalb, weil es ihnen und andern Forschern nie gelungen war, Bakterien in pflanzlichen Tumoren mikroskopisch nachzuweisen. Weiter behaupten sie, aus dem Filtrat zerriebener Tumoren, die durch *Pseudomonas tumefaciens*-Infektionen an Zuckerrüben entstanden waren (sie benutzten bei der Her-

---

[1]) Ich behalte diesen Ausdruck bei, obwohl er nur dann einen Sinn hat, wenn er sich auf bestimmte Bakterienfilter bezieht.

[2]) Siehe dazu auch die Diskussionen von Molisch (1908) und Gaidukov (1906) über das Vorkommen ultramikroskopischer Mikroben.

stellung des Filtrats (Chamberland L 3 Kerzen), normales Bakterienwachstum und bei Infektionsversuchen mit solchem Filtrat an Pflanzen das Heranwachsen von Tumoren beobachtet zu haben. Wie schon erwähnt, hat Lieske aus dem Nichtvorhandensein der *Pseudomonas tumefaciens*-Stäbchen in Milchkulturen ebenfalls auf filtrierbare Formen in diesem Medium geschlossen. Allerdings erwies sich nach seinen Filtrationsversuchen Milchfiltrat als steril, wohl infolge Verstopfung der Filterporen durch die Milch. Weit bessere Ergebnisse hat Lieske bei der Filtration von mehrere Wochen alten Bouillon-Kulturen erhalten: Hier sollen sich im bakterienfreien Filtrat die Ultraformen zu neuen, normalen Stäbchen entwickelt haben. Zu anderen Resultaten war allerdings schon 1926 Rosen gekommen: Bei Benutzung von Berkefeld-Filtern (V) gelang ihm der Nachweis von *Pseudomonas tumefaciens*-Stäbchen im Filtrat, deren Überimpfungen auf geeignete Medien Bakterienvegetation zur Folge hatten. Dabei erwiesen sich nach Israilsky Filtrate durch Chamberlandkerzen von Rüben-Tumoren als steril, desgleichen konnte Brown in Bouillonkulturen bei Benutzung von Chamberland L 3 Kerzen keine filtrierbaren Stadien von *Pseudomonas tumefaciens* nachweisen; Tumorfiltrat (*Ricinus*-Tumoren) war ebenfalls nicht infektiös. Endlich gibt Kauffmann an (er verwendete Silberschmidt-Kerzen aus Porzellan), daß „alle Filtrate wirkungslos“ waren; „ich muß schließen, daß das wirksame Prinzip an die lebenden *Tumefaciens*-Bakterien selbst gebunden ist“.

Da, wie diese Literaturübersicht ergibt, die einzelnen Forscher mit verschiedenen Filtern begreiflicherweise zu ganz verschiedenen Ergebnissen gelangt waren, versuchte ich nun, mit Hilfe mehrerer Filtersorten die Frage nach dem Vorhandensein der filtrierbaren Gonidien bei *Pseudomonas tumefaciens* in irgendeiner Weise zu beantworten[1]).

Ich filtrierte Milch-, Bouillon- und Malz-Gelatine-Kulturen der *Pseudomonas tumefaciens* verschiedenen Alters (5 Tage bis 1 Monat), weiter auch zerriebene *Helianthus*-Tumore, die sich nach Infektion mit dem Krebserreger entwickelt hatten, und Erdkulturen. Die Erdkulturen und die Tumore mußten einer vorherigen Behandlung unterzogen werden. So wurde der mit *Pseudomonas tumefaciens* beimpften Erde Krebslösung zugesetzt und der so gewonnene Brei durch Filtrierpapier gegeben, bevor er zu den Filtrationsversuchen verwendet wurde. Ähnlich verfuhr ich mit den Tumoren, die ich nach Zusatz von Krebslösung in einer Reibschale zerrieb. Nachfolgende Filtration durch Filtrierpapier befreite die Lösung von den gröbsten Teilchen.

Als Filter benutzte ich zunächst drei Filterarten:

1. Porzellanfilter der Firma Haldenwanger, Spandau,
2. Kieselgurfilter (N) der Firma Berkefeld, Celle,
3. Asbestfilter (EK) der Firma Seitz, Kreuznach[1]).

---

[1]) In ihrer auf S. 258 schon genannten, nach Abschluß meiner Untersuchungen erschienenen Arbeit sagen Stapp und Bortels, daß filtrierbare Stadien von *Pseudomonas tumefaciens* nicht nachweisbar seien. Sie benutzten Druckfiltrationsapparate, Modell der bakteriologischen Anstalt der Landwirtschaftskammer Braunschweig, und Cellafilter. Die *Pseudomonas tumefaciens*-Stäbchen passierten die Filter als solche, wenn die Poren mindestens zirka 1 bis 2 μ weit waren.

[1]) Die Seitzschen Filter bestehen aus „Preßlingen, in denen Kieselgur, Asbest oder Kaolin mit Baumwolle, Flachs oder Zellulose in geeigneter Mischung feucht angeschwemmt und verfilzt, dann getrocknet und sterilisiert sind“ (Prausnitz, 1930, S. 84).

Vor jeder Filtration wurden die zur Verwendung gelangenden Filter mit Saugflasche bei 1,5 Atm. im Autoklaven (20 Minuten lang) oder zweimal im Dampftopf an zwei aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert (je eine halbe Stunde lang). Das Ansatzrohr der Saugflasche war vorher mit einem Wattebausch verschlossen worden; außerdem hatte ich das Filter mit einem passenden, umgestülpten Becherglas bedeckt. Während der Filtration war der Saugflasche ein Röhrchen mit Watte vorgeschaltet.

Bei der Milchfiltration benutzte ich neben Asbestfiltern auch Berkefeldkerzen, und zwar solche, die an ihrem offenen Ende mit einem eisernen Ansatzrohr versehen sind. Da die Milch als Suspension sich schwierig durch engporige Filter treiben läßt und deshalb nur eine geringe Ausbeute bei der Filtration möglich ist, wurden zunächst einige Tropfen abfiltriert. So hatte ich die Gewißheit, daß das Ansatzrohr des Filters mit Filtrat angefüllt war. Von diesem im Filterröhrchen befindlichen Filtrat wurde mit einer Platinöse auf verschiedene Nährmedien übergeimpft.

Bei allen anderen Versuchen gelangten neben den Asbestfiltern einfache Filterkerzen (Berkefeld- oder Porzellankerzen) ohne Ansatzrohr zur Verwendung. Bei einigen Bouillonfiltrationen hatte ich nach der Abimpfung mit der Platinöse versucht, das Filtrat nach einem anderen Nährmedium steril überzugießen, was natürlich wegen der Gefahr einer Fremdinfektion keine einwandfreien Versuchsresultate ergeben kann. Später bin ich daher so verfahren: Einige Ösen des Filtrates wurden auf andere Nährmedien übergeimpft, der Rest steril überpipettiert und so mit neuer Nährlösung versetzt.

Die Asbestplatten wurden nur einmal benutzt, während die Kerzen nach vorheriger Reinigung mehrere Male zur Verwendung gelangten. (Die Berkefeldkerzen, die mit einem Ansatzrohr versehen sind, reinigte ich nach Gebrauch dadurch, daß ich der Reihe nach Xylol, Alkohol und Wasser durchlaufen ließ, während die Reinigung einfacher Kerzen folgendermaßen vorgenommen wurde: Zunächst Auskochen in Chromschwefelsäure, mehrmaliges Auskochen in Wasser. Danach wurden sie so lange mit heißem Wasser durchspült, bis das Filtrat einen pH-Wert von ungefähr 7 zeigte.)

Als Nährmedien, welche mit dem Filtrat beimpft wurden, benutzte ich Fleischextrakt-Pepton-Agar, Krebsagar, Krebslösung, Pepton-Bouillon und Malz-Gelatine-Nährlösung, also Medien, auf denen der Pflanzenkrebserreger gut gedeiht. Die beimpften Röhrchen, von denen ich bei jedem Filtrationsversuch mindestens fünf ansetzte, wurden dann ungefähr vier Wochen lang bei 30 °C aufbewahrt und daraufhin beobachtet, ob sich Bakterienwachstum bemerkbar machte. Oft zeigten diese Röhrchen eine Trübung, die aber vielfach, wie eine mikroskopische Untersuchung ergab, auf Fremdinfektion zurückzuführen war (steht in der Tabelle 2 unter „?“), oder aber — bei Asbestfiltern — auf ihre Durchlässigkeit für Bakterien. In den weitaus meisten Fällen dagegen erwies sich diese Trübung als ein

Eiweißausfall; denn Abimpfungen von solchen Röhrchen, die immer vorgenommen wurden, ergaben kein Wachstum. Wahrscheinlich war sie hier dadurch zustande gekommen, daß Eiweißkörper der Nährmedien beim Zusammenbringen mit dem Filtrat, dessen pH durch das vor der Filtration stattgefundene Bakterienwachstum sich geändert hatte, ausgefallen waren.

Das Ergebnis aller Filtrationen ist in Tabelle 2 zusammengestellt. Aus ihr geht hervor, daß die Asbestfiltration ein Filtrat ergab, das bei Abimpfung auf die oben angeführten Nährmedien meistenteils Bakterienwachstum hervorrief. Das Filtrat bei Berkefeld- und Porzellanfiltration erwies sich als steril, mit Ausnahme der in Tabelle 2 mit *) bezeichneten positiven Versuchsergebnisse der Porzellanfiltration, die zweifellos darauf zurückzuführen sind, daß bei dem Versuch, das Filtrat steril in verschiedene Nährmedien überzugießen, eine Fremdinfektion stattgefunden hatte.

Tabelle 2.

Nährmedium	Stamm	Filter	Zahl der Filtrationen	Ergebnis [1]		
				—	?	+
Milch	III	Berkefeld	3	3		0
		Asbest	4	1		3
	II	Berkefeld	3	3		0
		Asbest	3	1		2
	I	Berkefeld	8	7	1	0
		Asbest	4	0		4
Malz-Gelatine-Nährlösung	III	Porzellan	8	8		0
		Asbest	5	1		4
	II	Porzellan	8	8		0
		Asbest	5	1	1	3
	I	Porzellan	7	6	1	0
		Asbest	4	2	1	1
Bouillon	III	Porzellan	7	7		0
		Asbest	5	2		3
	II	Porzellan	8	1	7*)	0
		Asbest	5	5		0
	I	Porzellan	8	8		0
		Asbest	5	4		1
Zerriebene Tumore . . .	III	Porzellan	8	6	2	0
		Asbest	2	0		2
	II	Porzellan	2	2		0
	I	Porzellan	2	2		0
Erde	III	Porzellan	5	5		0
		Berkefeld	4	4		0
		Asbest	5	4		1

[1]) — bedeutet, daß das Filtrat beim Überimpfen kein Bakterienwachstum hervorrief.
+ bedeutet, daß die mit Filtrat beimpften Kulturröhrchen Bakterienwachstum zeigten;
? bedeutet, daß innerhalb eines Filtrationsversuches ein Teil der vom Filtrat abgeimpften Kulturen Bakterienwachstum zeigte, der andere dagegen nicht.

Das positive Ergebnis der Asbestfiltration kann nun dreierlei Ursachen haben:

1. Verunreinigung der Kulturen beim Abimpfen,
2. „filtrierbare Gonidien", die sich zu Bakterien entwickelt haben,
3. Durchgang von ganzen Bakterienleibern.

Der zuerst angeführte Grund kann deshalb nicht für diese Versuchsergebnisse verantwortlich gemacht werden, da ich bei der Berkefeld- und Porzellanfiltration beim Abimpfen ebenso verfuhr wie bei der Asbestfiltration, ohne dabei einer Fremdinfektion zum Opfer gefallen zu sein. Weiter würde bei den Berkefeld- und Porzellanfiltrationen kein Grund für die Annahme vorliegen, daß es „filtrierbare Gonidien" von der Größenordnung gibt, die über dem Wirkungsbereich dieser Filterporen liegt. Mit Recht könnte aber der Einwand erhoben werden, daß diese verschiedenen Versuchsergebnisse von der Größe der filtrierbaren Gonidien abhängig sei, die bei der Asbestfiltration noch durch die Poren schlüpfen konnten, bei den übrigen Filtern dagegen nicht. Aus eben demselben Grunde wäre es auch wohl denkbar, daß ganze Bakterienleiber oder „Bakterienbruchstücke" das Asbestfilter zu passieren vermögen.

Zunächst versuchte ich diese Frage dadurch zu klären, daß ich Kulturen anderer Bakterienstämme filtrierte, um das Verhalten ihres Filtrats in derselben Weise wie bei *Pseudomonas tumefaciens* zu prüfen. Ich verwendete: *Bact. coli*, *prodigiosum*, *Bac. mesentericus* und *Sarcina lutea*. Alle zog ich unter denselben Bedingungen in Milch oder Pepton-Bouillon. Die Filtration wurde nur mit Asbestfiltern vorgenommen. Die Ergebnisse gibt Tabelle 3 wieder, die zeigt, daß das Filtrat dieser Bakterienkulturen im Gegensatz zu dem der *Pseudomonas tumefaciens*-Stämme steril war. Um die Ursache der verschiedenartigen Resultate bei der Filtration durch Asbest festzustellen, untersuchte ich mikroskopisch die Bakterien auf ihre Breite.

Tabelle 3.

Bakterienstamm	Nährmedium	Zahl der Filtrationen	Ergebnis	
			+	—
Bact. coli	Milch	5	0	5
	Bouillon	4	0	4
Bact. prodigiosum .	Milch	2	0	2
	Bouillon	4	0	4
Bac. mesentericus .	Milch	3	0	3
Sarcina lutea . .	Milch	4	0	4

Besonderen Wert legte ich auf einheitliche Herstellung der Präparate; die Ausstriche von den Milchkulturen wurden mit Karbolgentianaviolett, von den Bouillonkulturen mit Karbolfuchsin gefärbt. Allerdings kann die Färbung die Größe der Bakterienleiber verändert haben; doch unter der Voraussetzung, daß diese Veränderung bei allen filtrierten Bakterienstämmen

gleich ist, ließen sich die in Tabelle 4 zusammengestellten Werte ermitteln. (Optik: Zeiß, Apochr. 120 ×; Komp. Ok. 20 ×.)

Tabelle 4.

Bakterienstamm	Breite der bei der Filtration benutzten Bakterienstämme	
	Nährmedium	Breite in μ
Pseudomonas tumefaciens I	Milch	0,4—0,7
	Bouillon	0,4—0,7
Pseudomonas tumefaciens II	Milch	0,4 - 0,7
	Bouillon	0,4—0,7
Pseudomonas tumefaciens III	Milch	0,4—0,7
	Bouillon	0,4—0,7
Bact. coli	Milch	0,7—0,9 [1])
	Bouillon	0,4—0,8
Bact. prodigiosum	Milch	0,6—0,9
	Bouillon	ca. 0,5 [1])
Bac. mesentericus	Milch	0,7—0,9
Sarcina lutea	Milch	0,9—1,0

Die Tabelle zeigt, daß die *Pseudomonas tumefaciens*-Stämme in Milch dünner sind als die anderen Bakterien, während ihre Breite in Bouillon ungefähr von derselben Größenordnung ist wie die der übrigen Bakterien. Demnach wäre es wahrscheinlich, daß *Pseudomonas tumefaciens* in Milch wegen seiner geringen Dicke die Asbestfilter zu passieren vermag, während dieses den anderen untersuchten Bakterienstämmen, die ja nach der Tabelle dicker sind als der Pflanzenkrebserreger, nicht gelang. Doch läßt sich derselbe Grund nicht für das Ergebnis der Bouillonfiltration anführen.

Wenn es jedoch der Fall sein sollte, daß *Pseudomonas tumefaciens*-Stäbchen Asbestfilter passieren, so müßten sie sich mikroskopisch im Filtrat nachweisen lassen. Die daraufhin angestellten, mikroskopischen Untersuchungen verliefen im Einklang mit Lieske bei der Milchfiltration ergebnislos, da sich hier noch Fettröpfchen der Milch vorfanden, die das Färben der Ausstrichpräparate beeinträchtigt hatten. Dagegen gelang es, in Asbestfiltraten von Bouillon- und Malz-Gelatine-Kulturen Stäbchen nachzuweisen, und zwar oft in großer Anzahl. Es ist demnach ziemlich unwahrscheinlich, daß das positive Ergebnis der Asbestfiltration auf „filtrierbare Gonidien“ zurückgeführt werden kann; denn die im Filtrat nachweisbaren Bakterien riefen beim Weiterimpfen, soweit sie

[1]) Eine Erklärung für die verschiedene Größe von *Bact. prodigiosum* und *coli* in Milch einer-, Bouillon andererseits vermag ich nicht zu geben. — Ich zitiere zum Vergleich einige andere Angaben aus der Literatur: *Pseudomonas Olivae* (lebd.) 0,2 — 0,5 μ dick (Arth. Meyer), *Pseudomonas indigofera* (Kanadabals.) 0,18 × 0,6 μ (Arth. Meyer), *Bact. coli* 0,8 × 1 — 3 μ (Mig.), *Bact. prodigiosum* 0,5 × 0,5—1 μ (Mig.), *Sarcina lutea* Durchm. 1,1 μ (Mig.).

noch lebensfähig waren und nicht beim Filtrieren gelitten hatten, in natürlicher Weise Wachstum hervor.

Nach all diesen Feststellungen ist die Frage berechtigt, ob die Filtrationsergebnisse mit dem Bau der benutzten Filter in Widerspruch stehen oder ob sie mit ihm in Einklang zu bringen sind, ferner, wie es möglich ist, daß trotz der ungefähr gleichen Breite von *Pseudomonas tumefaciens Bact. coli* und *prodigiosum* in Bouillon die erstere Asbestfilter passiert, die übrigen beiden Bakterien dagegen nicht. Der Filtrationsmechanismus und die Porenweite dieser drei Filter sollen zunächst erörtert werden.

Man unterscheidet zwei Arten der Filterwirkung: die Sieb- und Adsorptionswirkung. Bei den Berkefeld- und Porzellankerzen kommt eine Siebwirkung nicht in Frage; denn der Durchmesser der größten Poren schwankt bei den von mir benutzten Berkefeldfiltern nach Angabe der Firma zwischen 3 bis 5 μ, der der mittleren Poren zwischen 1,5 bis 2,5 μ. Nach Prausnitz (1930) liegt der Durchmesser der mittleren Poren bei den Porzellanfiltern der Firma Haldenwanger, Spandau, bei 2,5 μ. Etwas oberhalb der letztgenannten Zahl liegen die Werte für den Durchmesser der größten Poren, die natürlich in ganz besonderem Maße für die Durchlässigkeit eines Filters maßgebend sind. Wenn man diese Angaben mit den Werten der Bakteriengröße vergleicht (Tabelle 4), so wird man überzeugt sein, daß diese beiden Filter keine ausschließliche Siebwirkung ausüben, sondern ganz wesentlich auch adsorptiv wirken. Schon 1910 hat Schmidt, der den Mechanismus der Bakterienfiltration bei Berkefeldfiltern genauer untersuchte, Adsorptionswirkung hier nachweisen können. Weiter wird, falls die zu filtrierende Flüssigkeit viele kolloidale Teilchen enthält, infolge der Filtrationswirkung eine Verdichtung dieser Teilchen über dem Filter eintreten, die schließlich so weit führt, daß es hier zu einer Schichtbildung kommt, die als solche ebenfalls wie ein Filter wirkt und den Durchtritt der Bakterien durch die Filterporen erschwert oder sogar verhindert. Ähnliches berichtet Kruse (1908) über die Filterwirkung von Sand bei der Trinkwasserfiltration. Ein solches Filter soll nach ihm erst dann leistungsfähig sein, d. h. die das Wasser verunreinigenden Mikroben restlos zurückhalten können, wenn es über dem Filter zur Bildung der sogenannten „Filterhaut" gekommen ist, die ihre Entstehung der Verschleimung der Sandschichten verdankt[1]).

Für die Asbestfilter, die, wie Roßkopf (1924) berichtet, ebenfalls adsorptiv wirken, spielt noch ein anderer Umstand beim Filtrationsvorgang eine Rolle, und zwar die leichte Benetzbarkeit und Quellbarkeit. Natürlich kann sich hierbei die Porengröße ändern; in welcher Richtung diese Änderung vor sich geht, vermag ich nicht zu beurteilen. Die Firma Seitz prüft die „Entkeimungsschichten" auf ihre Keimsicherheit mit *Bact. coli.* Um etwas über die Porengröße des Asbestfilters im Vergleich mit den andern Filtriersorten zu erfahren, setzte ich Versuche an, deren Ergebnis einigermaßen das Verhältnis seiner Porendurchmesser zu denen der andern zeigt. Methode I: Durch ein trockenes Filter ließ ich so lange Luft ansaugen, bis das Manometer nicht mehr anstieg. So kannte ich den Manometerstand, bei dem durch die Poren des Filters ebenso viel Luft eindringt, wie die Luftpumpe absaugt. Tabelle 5 gibt die Ergebnisse wieder, aus denen hervorgeht, daß die Porenweite der einzelnen Filter verschieden sein muß. Denn es ist offenbar, daß beim Vorhandensein von großen Poren (Asbestfilter) ein geringer Unterdruck für das Einströmen einer bestimmten Luftmenge benötigt wird. Kleinere Poren (Porzellan und Berkefeldfilter) lassen viel weniger Luft eintreten; erst bei einem hohen Unterdruck kann sich die Druckdifferenz, die zwischen der äußeren Luft und dem Inneren der Saugflasche besteht, ausgleichen. Demnach besitzen Porzellan- und Berkefeldkerzen engere Poren als

[1]) Mudd (1922) und Kramer (1928) (zit. nach Grinnell 1929) haben das Adsorptionsvermögen auf elektrische Erscheinungen zurückgeführt.

Tabelle 5.

Filter	Methode I Manometerstand mm	Methode II Manometerstand mm
Porzellan.	600	720
Berkefeld		
mit Eisenansatzrohr . .	300	360
ohne Eisenansatzrohr. .	350	490
Asbest	210	140

die Asbestfilter. Diese Methode ist allerdings insofern ungenau (vgl. auch Grinnells Kritik), als neben der Porenweite auch die Anzahl der Poren für das Ergebnis maßgebend ist. So würde man z. B. bei einem Filter mit weniger großen Poren, wenn man seine Brauchbarkeit mit Hilfe dieser Methode prüft, denselben Manometerwert ablesen wie bei einem Filter mit vielen kleinen Poren: In beiden Fällen würde die gleiche Luftmenge durch das Filter eintreten. Der Manometerwert ist ferner auch von der Leistung der Luftpumpe abhängig. — Ein ähnliches Resultat ergab die „Luftdurchblasemethode" (Methode II) nach Bechhold, der hierüber folgendes schreibt (zit. nach Zsigmondy 1925): „Um durch eine Kapillare, die in Wasser taucht und vollkommen benetzt wird, Luft zu pressen, ist ein gewisser Druck erforderlich, der abhängig ist von der Oberflächenspannung von Wasser gegen Luft, also einer Konstanten, und dem Radius der Kapillaren. Je weiter also der Durchmesser der Kapillaren ist, desto geringer ist der Unterdruck, der nötig ist, um das Wasser aus dieser herauszupressen, während bei engen Kapillaren hierzu ein größerer Unterdruck erforderlich ist. So gibt der abgelesene Manometerstand ein Maß für die Durchmesserwerte der Kapillaren an." Bei diesen Versuchen verfuhr ich ebenso wie Bechhold, nur mit dem Unterschied, daß die Luft durch das nasse Filter mittels der Saugpumpe gezogen wurde, während Bechhold seine Versuche bei einseitigem Überdruck ausführte. Das zu untersuchende Filter wurde mit Wasser überschichtet, so daß bei einem bestimmten Unterdruck Luft von außen durch das Filter nach innen gezogen wird, die vom Grunde des Filters im Wasser als Luftblasen aufperlt. Manometerwerte dieser Versuche, die beim Aufsteigen der ersten Luftblasen abgelesen wurden, sind im zweiten Teil der Tabelle 5 eingetragen. Sie bestätigen die Beobachtungen des ersten Versuches: Die Poren von Asbestfiltern sind weiter als die der Porzellan- und Berkefeldkerzen.

Nach all diesen Ausführungen besteht die Möglichkeit, daß *Pseudomonas tumefaciens* Asbestfilterporen passieren kann, da diese weiter sein müssen als die Poren der Porzellan- und Berkefeldfilter. Wenn es nur auf die Dimensionen der Bakterien einerseits, der Filterporen andererseits ankäme, dann hätten auch die übrigen Bakterienstämme (*Bact. coli*, *Bact. prodigiosum*) bei der Bouillonfiltration dasselbe Ergebnis zeigen müssen, da sie nicht durchweg größer sind. Vielleicht spielen hier die Deformierbarkeit der Stäbchen oder ihre äußere Schleimhülle eine große Rolle. So würden z. B. leicht deformierbare Stäbchen eher den Windungen einer Filterpore nachgeben können als solche, deren Bakterienleib starr ist. Weiter könnte eine gut entwickelte Schleimhülle die Reibung in den Filterporen herabsetzen, so daß die Passage eines Stäbchens leichter möglich ist. So mag vielleicht der Umstand zu erklären sein, daß *Pseudomonas tumefaciens* Asbestfilter passiert, die anderen Bakterienstämme dagegen

nicht. Denkbar wäre auch, daß die Begeißelung eine Rolle spielt. Polar begeißelte und erst recht unbegeißelte Formen können vielleicht cet. par. das Filter leichter passieren als peritriche. Grinnell, der Berkefeld-V- und N-Filter benutzte, berichtet, daß ältere Kulturen von *Bact. prodigiosum* Filter, welche für jüngere undurchlässig sind, passieren; warum, wäre noch festzustellen. Bei Grinell finden sich auch Beispiele dafür, daß die Zusammensetzung der Lösung einen wesentlichen Einfluß auf die Filtration ausübt. Ferner liegt der Gedanke nahe, daß der Filtrationsvorgang die Lebensfähigkeit eines Bakterienstäbchens mehr oder weniger stark herabsetzt, also vielleicht von den einzelnen Bakterienstämmen verschieden ertragen wird, da diese beim Passieren der Filterporen der Gefahr einer mechanischen Beschädigung ausgesetzt sind.

Um diese Fragen mit Filterarten von bekanntem Porendurchmesser zu klären, benutzte ich für die nächsten Untersuchungen Membranfilter der Membranfiltergesellschaft Göttingen, die nach den Angaben von Zsigmondy und Bachmann (Zsigmondy 1925) hergestellt und nach der Filtrationsgeschwindigkeit von destilliertem Wasser oder nach der Luftdurchblasmethode von Barus-Bechhold (siehe Jander-Zakowski 1929, S. 145) geeicht werden. Die Adsorption bei dem Filtrationsmechanismus soll hier nur eine geringe Rolle spielen, d. h. es macht sich in erster Linie die Siebwirkung geltend. Allerdings tritt nach Jander und Zakowsky (1929, S. 32) bei der Filtration von Benzopurpurin neben der Siebwirkung auch Zurückhalten der Farbstoffteilchen durch Sorption ein, was sich an der starken Färbung des Membranfilters erkennen läßt. Ebenfalls behauptet Prausniz (1930), daß diesen Filtern eine spurenweise Adsorptionswirkung zukommt. — Bei meinen Versuchen filtrierte ich zunächst Milchkulturen von *Pseudomonas tumefaciens* III durch Membranfilter von verschiedener Porenweite (0,3 μ; 0,6 μ; 1,0 μ; 3,0 μ). Aufbewahrt und behandelt wurden diese Filter, wie es die Firma angibt (Aufbewahrung in einer Kupferdose). Vor Gebrauch wurde das in den Filterporen vorhandene Kupfer durch 10 % H_2SO_4-Lösung entfernt (1 Tag lang), und dann das Filter im fließenden Leitungswasser gespült (2 Tage lang). Die Filtration, Abimpfungen und weitere Durchführung eines Versuches wurden so vorgenommen, wie ich es oben näher beschrieben habe. Tabelle 6 gibt das Ergebnis dieser Versuche wieder. Das Filtrat erwies sich in allen Fällen als steril. Weiter ist bei Betrachtung der Tabelle leicht einzusehen, daß eine Adsorption der Bakterien durch das Filter auch hier stattgefunden haben muß.

Die letzte Serie der Filtrationsversuche galt dem Studium der Frage, ob der Pflanzenkrebserreger, wenn er in einer kolloidfreien Nährlösung gezogen wird, durch Membranfilter von bestimmter Porenweite geht. Hierzu benutzte ich Krebslösung. Da diese keine kolloidal gelösten Teilchen enthält, eignet sie sich meines Erachtens besonders für diesen Zweck. In Tabelle 6 sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Aus ihr läßt sich ersehen,

daß das Filtrat dieser Kulturen steril ist, ausgenommen das Filtrat, das ich bei der Filtration durch ein Membranfilter von der Porenweite 3,0 μ erhielt; diese Poren müssen Bakterien hindurchgelassen haben. Filtrierbare Gonidien können für dieses positive Versuchsergebnis nicht verantwortlich zu machen sein; denn diese hätten bei der Größenordnung der Filterporen, von 0,3 μ, 0,6 μ und 1,0 μ, selbst dann dieselben passieren müssen, wenn man annimmt, daß ein Teil durch Adsorption festgehalten wird. Der Einwand, daß die in den Filtern zurückgebliebene H_2SO_4, die

Tabelle 6.
Membranfiltration mit *Pseudomonas tumefaciens III.*

Nährmedium	Porenweite	Ergebnis
Milch	0,3	—
"	0,6	—
"	1,0	—
"	3,0	—
Krebslösung	0,3	—
"	0,6	—
"	1,0	—
"	3,0	+

natürlich bei der Filtration mit in das Filtrat übergehen mußte, das Wachstum in diesen Filtratröhrchen von Anfang an unterdrückt hat, ließ sich in einfacher Weise entkräften: So zeigte Beimpfung dieser Kulturen normales Bakterienwachstum.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß meine Filtrationsversuche keine Beweise für die Angaben Lieskes haben beibringen können. Es besteht die große Wahrscheinlichkeit, daß „filtrierbare Gonidien" bei *Pseudomonas tumefaciens* nicht vorkommen, wie es Rosen und Brown (1929) schon bei ihren Versuchen nachzuweisen gelungen war.

Welches Verhalten zeigen nun die Filtrate, wenn man lebende Pflanzen mit ihnen impft? Bei diesen Versuchen dienten junge *Helianthus*-Pflanzen als Impfobjekte, die mittels einer fein zugespitzten Präpariernadel mit Filtrat infiziert wurden. So impfte ich 194 Pflanzen mit den verschiedensten Filtraten. Tumorbildung war nur dann zu beobachten, wenn sich im Filtrat Bakterienwachstum entwickelt hatte (bei der Filtration durch Asbestfilter). Dagegen ist es mir nie gelungen, Tumorwachstum bei Infektion mit bakterienfrei gebliebenem Filtrat zu veranlassen. Impfungen mit *Pseudomonas tumefaciens* an *Helianthus* ergaben meistenteils Tumore, während sterile Krebslösung oder Malz-Gelatine-Nährlösung nicht die Fähigkeit besaßen, Gallen hervorzurufen. Diese Versuchsresultate dürften ebenfalls für die Tatsache sprechen, daß bei *Pseudomonas tumefaciens* keine filtrierbaren Bakterienformen existieren, die die

Ursache von Gallenbildung sein können, wie d'Hérelle und Peyre es behaupten.

Tumore an Pflanzen mit Milchröhren *(Euphorbia).*

Es soll nun noch über Versuche berichtet werden, die sich an ähnliche, von Lieske ausgeführte anschließen. Dieser hat versucht, an Pflanzen, die Milchröhren besitzen, durch Einimpfungen von *Pseudomonas tumefaciens* Tumoren hervorzurufen, was ihm jedoch bei *Euphorbiaceen* nicht geglückt ist. Besäße, wie Lieske ausführt, *Pseudomonas tumefaciens* die Fähigkeit der Tumorbildung an diesen Pflanzen, so wäre die Möglichkeit gegeben, daß in ihren Bahnen die Tumorerreger verschleppt würden und so die Bildung von Sekundärtumoren bewirkt werde, natürlich unter der Voraussetzung, daß das Milchröhrensystem auch mit in die Geschwulst hineinwächst und die „Milch" die Funktion eines Nährmediums und Überträgers der Bakterien oder, wie der Autor annimmt, „filtrierbaren Gonidien" übernimmt. Lieske zieht hier eine Parallele zu dem tierischen und menschlichen Krebs insofern, als dieser auf dem Wege der Lymph- und Blutbahn verbreitet wird und Sekundärtumore hervorrufen kann (Metastasenbildung).

Es gelang an *Euphorbia helioscopia* durch Infektion mit *Pseudomonas tumefaciens* Tumoren zu erhalten. Schon nach 4 Wochen machte sich der Erfolg dieser Impfung bemerkbar. Sämtliche Impfstellen entwickelten mit der Zeit kräftige Tumoren, deren Äußeres mit dem Aussehen der Geschwülste an anderen Pflanzen übereinstimmte. Auch mikroskopisch ließ sich kein Unterschied gegenüber dem Gewebe anderer Tumoren feststellen. Doch war es mir schon beim Durchschneiden derselben aufgefallen, daß kein Milchsaft an den Schnittflächen austrat. Auch habe ich mikroskopisch keine Milchröhren in den Tumoren nachweisen können. Hiermit war die Möglichkeit genommen, an meinem Material zu entscheiden, ob auf dem Wege der Milchröhren der Krankheitserreger in der Pflanze verbreitet werden kann. Auch Sekundärtumoren hatten sich bei einer Beobachtungszeit von über 9 Monaten an diesen Pflanzen nicht entwickelt.

Immerhin habe ich noch den Versuch gemacht, ob vielleicht der Milchsaft, der aus dem Stengel beim Abschneiden oberhalb eines Tumors ausfließt, *Pseudomonas tumefaciens* in irgendeiner Form enthält. Doch verliefen alle solche Versuche negativ. Ich impfte mit einer sterilen Platinnadel von dem Milchsaft ab, der beim Durchschneiden des Stengels oberhalb des Tumors austrat. Nach drei Wochen waren von 33 beimpften Röhrchen 30 steril geblieben, während die drei übrigen Kulturen Infektion durch einen Pilz aufwiesen.

Es ist mir also auf diesem Wege nicht gelungen, Beweise für die Verbreitung des Krankheitserregers durch den Milchsaft zu gewinnen.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Untersuchung hat das Studium der Morphologie und Physiologie von *Pseudomonas tumefaciens* zum Gegenstand mit besonderer Berücksichtigung der Frage nach dem Vorkommen „filtrierbarer, ultravisibler Gonidien".

Die eigenartige „Rosetten-" oder „Sternchen"-Bildung, die von verschiedenen Autoren bei *Pseudomonas tumefaciens* wie bei anderen Bakterienarten gefunden worden ist, wurde auch von mir untersucht, ohne Anhaltspunkte dafür zu gewinnen, daß es sich hier um Kopulationserscheinungen handelt, wie Lieske und andere Forscher annahmen; auch gelang es nicht, ein Verschwinden der Sternchen über das „Symplasma"-Stadium nachzuweisen. Mir scheint, daß die „Sternchen" mit der Bildung der Kahmhaut in Zusammenhang stehen. Zur Klärung dieses Problems sind aber weitere Untersuchungen erwünscht. Wegen sonstiger morphologischer und physiologischer Einzelheiten (Form und Größe, Wachstum auf verschiedenen Medien, Gas- und Säurebildung) sei auf den Text verwiesen. Dissoziationserscheinungen wurden nicht beobachtet.

Beweise für das Vorkommen filtrierbarer, ultravisibler Gonidien konnten nicht erbracht werden. In Milch verschwanden die Bakterienstäbchen im Gegensatz zu den Beobachtungen Lieskes auch nach längerer Kulturdauer nicht. Kulturen von *Pseudomonas tumefaciens* in verschiedenen Nährmedien ergaben ebenso wie zerriebene Tumoren nach Filtration durch Berkefeld-, Chamberland- und Membranfilter sterile Filtrate, während Asbestfilter die Bakterien durchließen, wie mikroskopisch nachgewiesen werden konnte.

Impfversuche mit lebenden Bakterien wurden mit Erfolg an *Helianthus* und *Nerium* durchgeführt. Ebenso gelang es, bakterielle Tumoren an *Euphorbia helioscopia* hervorzurufen. Da diese Tumoren keine Milchröhren führten, war jedoch die ursprünglich beabsichtigte Entscheidung der von Lieske aufgeworfenen Frage nicht möglich, ob vielleicht durch den Milchsaft eine Verbreitung von infektiösen Keimen innerhalb der Pflanze stattfindet.

Vorliegende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Universität zu Münster angefertigt und von der Philosophischen und Naturwissenschaftlichen Fakultät als Dissertation angenommen. Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Benecke, für seine Ratschläge meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Ebenso bin ich Herrn Prof. Dr. Mevius sowie Herrn Dr. Roberg für das rege Interesse an meiner Arbeit zu großem Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis.

Beijerinck, M. W., Künstliche Infektion von *Vicia Faba* mit *Bacillus radicicola*. Bot. Ztg., Jahrg. **48**, S. 837, 1890.

Beijerinck, M. W. und van Delden, A., Über die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. II., Bd. **9**, S. 3, 1902.

Bitter, H., Die Filtration bakterientrüber und eiweißhaltiger Flüssigkeiten durch Kieselgurfilter. Zeitschrift für Hygiene, Bd. **10**, S. 155, 1891.

Brown, N. A. and Quirk, A. J., Influence of Bacteriophage on *Bacterium tumefaciens* and some potential studies of filtrats. Journ. Agr. Res. Vol. **39**, p. 503, 1929.

Cano, U., Untersuchungen über die Verbreitung der ultramikroskopischen Keime in der Natur. Zentralbl. f. Bakt. I, Bd. **49**, S. 78, 1909.

Chambers, W. H., The growth, hydrogenion concentration, sugar fermentation, and surface tension of cultures of *Pseudomonas tumefaciens* and *Pseudomonas campestris*. Journ. Cancer. Res. Vol. **9**, p. 254, 1925.

Cholodny, N., Zur Methodik der quantitativen Erforschung des bakteriellen Planktons. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **77**, S. 179, 1929.

von Esmarch, E., Über kleinste Bakterien und das Durchwachsen von Filtern. Zentralblatt f. Bakt. I, Orig.-Bd. **32**, S. 561, 1902.

Gaidukov, N., Über die ultramikroskopische Untersuchung der Bakterien und über die Ultramikroorganismen. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **16**, S. 667, 1906.

Colley, M. W., Culture experiments with *Pseudomonas tumefaciens*. Amer. Journ. Bot., Vol. **18**, p. 211, 1931.

Grinnell, F. B., Observations of some the factors involved in filtration experiments. Journ. of Bact., Vol. **18**, p. 175, 1929.

Hefferan, M., An unusual bacterial grouping. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **8**, S. 689, 1902.

d'Hérelle, F. H., The bacteriophage, its role in immunity. Baltimore 1922.

d'Hérelle, F. H. und Peyre, E., Contribution à l'étude des tumeurs expérimentales. Compt. rend. sc. Paris. T. **185**, p. 227, 1927.

Israilsky, W. P., Bakteriophagie und Pflanzenkrebs. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **67**, S. 236, 1926.

Israilsky, W. P., Vergleichende Untersuchungen über die Rasseeigentümlichkeiten des *Bacterium tumefaciens* und verwandter Mikroorganismen. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **79**, 8. 354, 1929.

Israilsky, W. P. und Starygin, L., Die Dissoziation bei einigen Bakterienarten. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **81**, S. 1, 1930.

Jander, G. und Zachowski, J., Membran-, Cella- und Ultrafeinfilter. Leipzig 1929.

Jones, M., A peculiar microorganism showing rosette formation. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **14**, S. 459, 1905.

Kauffmann, F., Zur Erzeugung von Pflanzengeschwülsten durch die aus Mäusekarzinomen isolierten T-Bakterien. Zeitschr. f. Krebsforschung, Bd. **24**, S. 260, 1927.

Kauffmann, F., Zur Tumefaciensfrage. Zeitschr. f. Krebsforschung, Bd. **28**, Orig.-S. 109, 1929.

Kruse, W., Beiträge zur Hygiene des Wassers. Zeitschr. für Hygiene, Bd. **59**, S. 6, 1908.

Lehmann, K. B. und Neumann, R. O., Bakteriolog. Diagnostik. Bd. I, München 1926.

Lieske, R., Kurzes Lehrbuch der allgemeinen Bakterienkunde. Berlin 1926.

Lieske, R., Untersuchungen über die Krebskrankheit bei Pflanzen, Tieren und Menschen. Zentralbl. f. Bakt., I. Orig.-Bd. **108**, S. 118, 1928. II. Mitt., ebenda, Bd. **111**, S. 419, 1929.

Lieske, R., Das Krebsproblem vom Standpunkt der Pflanzenphysiologie und allgemeinen Bakteriologie. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **74**, S. 395, 1928.

Lieske, R., Untersuchungen über die als Mauke oder Grind bezeichnete Erkrankung der Reben. Arb. a. d. Biol. Reichsanstalt, Bd. **15**, S. 261, 1928.

Löhnis, F., Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **14**, S. 582, 1905.

Löhnis, F., Studies upon the life cycles of the bacteria. National Acad. of sc. Mem., Vol. **16**, no. 2, Washington 1921.

Löhnis, F., Zur Morphologie und Biologie der Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **56**, S. 529, 1922.

Löhnis, F. and Hansen, R., Nodule bacteria of leguminous plants. Journ. Ag. Res. Vol. **20**, p. 543, 1921.

Löhnis, F. and Smith, N. R., Life cycles of the bacteria. Journ. Agr. Res. Vol. **6**, p. 675, 1916.

Meyer, A., Praktikum der botanischen Bakterienkunde. Jena 1903.

Melin, E., Ultramikroskopische Mikroben im Waldboden. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. **40**, S. 21, 1922.

Miehe, H., Sind ultramikroskopische Organismen in der Natur verbreitet? Biologisches Zentralblatt, Bd. **43**, S. 1, 1923.

Molisch, H., Über Ultramikroorganismen. Bot. Zeitung, Jahrg. **66**, S. 131, 1908.

Prausnitz, P. H., Filtration im Laboratorium. Kolloidzeitschr., Bd. **50**, S. 77 u. 167, 1930.

Riker, A. J., Banfield, W. M., Wright, W. H., Keitt, G. W. and Sagen, H. E., Studies on infectious hairy root of nursery apple trees. Journ. Agr. Res., Vol. **41**, p. 507, 1930.

Rosen, H. R., Morphological notes together with some ultrafiltration experiments on the crown-gall pathogene, *Bacterium tumefaciens*. Mycologia, Vol. **18**, p. 194, 1926.

Roßkopf, J., Die Verwendung des Seitzschen E. K. Filters zur Entkeimung von Rotlaufserum. Zentralbl. f. Bakt. I, Orig.-Bd. **93**, S. 380, 1924.

Schmidt, P., Über den Mechanismus der Bakterienfiltration mit Berkefeldfiltern. Zeitschrift für Hygiene, Bd. **65**, S. 423, 1910.

Schröder, M., Die Assimilation des Luftstickstoffs durch einige Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. II, Bd. **85**, S. 177, 1931/32.

Smith, E. F., An introduction to bacterial diseases of plants. Philadelphia, London 1920.

Smith, E. F. and Townsend, C. O., A plant tumor of bacterial origin. Science, Vol. **25**, p. 671, 1907.

Stapp, C., Der bakterielle Pflanzenkrebs und seine Beziehung zum tierischen und menschlichen Krebs. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges., Bd. **45**, S. 480, 1927.

Stapp, C. und Bortels, H., Der Pflanzenkrebs und sein Erreger, *Pseudomonas tumefaciens*. II. Mitteilung: Über den Lebenskreislauf von *Pseudomonas tumefaciens*. Zeitschr. f. Parasitenkunde, Bd. **4**, S. 101, 1931.

Walkden, H., The isolation of the organism causing crown gall on *Chrysanthemum frutescens* in Britain. Ann. of Bot., Vol. **35**, p. 137, 1921.

Wright, W. H., Hendrickson, A. A. and Riker, A. J., Studies on the progeny of single-cell isolations from the hairy-root and crown-gall organisms. Journ. Agr. Res., Vol. **41**, p. 541, 1930.

Zsigmondy, R., Kolloidchemie. I. Teil, 5. Aufl., Leipzig 1925.

Aus dem Botanischen und Pflanzenpathologischen Institut der Technischen Hochschule in München.
Direktor: Prof. Dr. Boas.

Zur Physiologie von Cladosporium.

Von
F. P. Demmler.

Mit 16 Textabbildungen.

Cladosporium herbarum wurde zum ersten Mal von H. F. Link als selbständige Art beschrieben (G. Lindau 33). H. F. Link kannte damals naturgemäß nur die Conidienfruchtform dieses Pilzes, da die Beziehungen zwischen Haupt- und Nebenfruchtform noch nicht bekannt waren. Erst im Jahre 1894 gelang es Janczewski die Hauptfruchtform zu finden, nämlich *Mycosphaerella Tulasnei* (Jancz.). Er kannte die Entwicklung dieses Pilzes aus den Ascosporen bis zur Entstehung reifer Perithecien.

Es gibt nun bei *Cladosporium herbarum*, genau wie bei *Aspergillus niger* und anderen Pilzen, zahlreiche Rassen, die je nach den Züchtungsbedingungen mehr oder minder variieren können. G. Lindau (33) glaubt behaupten zu dürfen, daß die Arten, die von Janczewski nicht zu *Mycosphaerella Tulasnei* gerechnet sind, als besondere Arten weitergeführt werden müssen. Man glaubte eine Zeit lang sogar an eine Polymorphie bei Cladosporium und hielt z. B. Dematium für eine Erscheinungsform von Cladosporium, bis dann Schostakowitsch (46) die Unrichtigkeit dieser Ansichten bewiesen hat. Da die morphologische Abgrenzung der einzelnen Arten sehr schwierig ist, wurde auch über die Identität von *Cladosporium herbarum* und *Hormodendron cladosporoides* (Sacc.) gestritten. Auch hier hat Schostakowitsch (46) durch physiologische Versuche, die sich aber nur auf Zuckerkonzentrationen, Gehalt an Kalisalpeter in der Nährlösung und auf Temperaturversuche beschränken, nachgewiesen, daß es sich hier um zwei verschiedene Arten handelt. Auch von Zopf (56) wird *Hormodendron Cladosporoides* (Sacc.) als besondere Art weitergeführt, da er *Cladosporium herbarum* (Link) nicht definieren kann, weil Link keine guten mikroskopischen Präparate hinterlassen habe. Sorauer (49) dagegen sieht *Hormodendron c'adosporoides*, unter Berufung auf Janczewski, als eine besonders auffallende Konidienform von *Mycosphaerella Tulasnei* (Jancz.) an. Es kann sich also in jedem Falle hier nur um einander sehr nahestehende Formen handeln.

Cladosporium herbarum ist einer der häufigsten Schimmelpilze auf allen möglichen toten oder absterbenden Pflanzen und Pflanzenteilen. Diese bedeckt er mit seinem grünbraunen bis grünlichen Rasen. Ich selbst habe ihn auf Ricinus, Phytolaca, Phaseolus, Gentiana und noch anderen Pflanzenresten, ferner im Rußtau (vgl. Tengwall 51) beobachten können.

Hier ist er in der Regel Saprophyt, doch kann er auch als Parasit auftreten. So schreibt Sorauer (49): „Man hat den Pilz früher für einen harmlosen Saprophyten gehalten, bis eingehende Untersuchungen zeigten, daß er auch als „Schwächeparasit“ die Ursache von „Schwärzekrankheiten“ bei vielen Kulturpflanzen z. B. bei Getreide ist.“ Ferner wird er lästig in Kellern, in Käsereien, wo er das Schwarzwerden der Käse bewirkt (L. Adametz 1) und auf feuchtem Malz (G. Lindau 33). Er soll den Stopfengeschmack der Weine bedingen (Berlese und Guéguen 5).

Der Pilz spielt aber nicht nur die Rolle eines Schädlings in der Natur, sondern er ist auch eine „Gelegenheitskulturpflanze“, insofern als er bei der Tauröste des Flachses die Pektinwände mit zur Auflösung bringen hilft (Wiesner 54).

Es ist auffallend, daß ein so weit verbreiteter Pilz nicht genauer physiologisch untersucht ist. Infolgedessen habe ich mir vorgenommen, Beiträge zu einer allgemeinen Physiologie dieses Allerweltspilzes zu liefern.

Die zahlreichen Literaturstellen anzugeben, an denen Cladosporium erwähnt wird, würde zu weit führen, da es sich in der Regel nur um leere Namensangaben handelt. Einige wichtigere Angaben über die Physiologie und Biologie des Pilzes will ich im folgenden kurz anführen:

Die ersten physiologischen Untersuchungen über Cladosporium stammen von Laurent (32), der Cladosporium als Nitratpilz beschreibt, gemäß seines Einteilungsgrundsatzes, die Schimmelpilze in Nitrat- und Ammoniakpilze einzuteilen. Später weist Ritter (42) nach, daß Cladosporium kein Nitratpilz, sondern ein Ammoniakpilz ist, um hier vorerst die Ausdrucksweise Laurents beizubehalten.

Über eine Selbstvergiftung von Cladosporium in harnstoffhaltiger Nährlösung infolge starker Bildung von Ammoniak bzw. Ammoniumkarbonat berichtet Boas (7).

Fröhlich (19) findet, daß Cladosporium Stickstoff aus der Luft zu binden vermag. Jedoch ist die Frage der Bindung von Stickstoff aus der Luft durch Cladosporium noch nicht entschieden. Über die Fähigkeit der Stickstoffbindung bei anderen Pilzen verweise ich auf die Arbeiten von Ternetz (52), Fröhlich (19), Schröder (47) und auf Czapek (17).

Die Entwicklung von Cladosporium-Kulturen auf Würze bzw. auf Würzegelatine ist schon von Schnegg (45) zeichnerisch behandelt. Er weist dabei auch auf das Schwarzwerden der Unterseite der Kolonien auf Würzegelatine als ein gutes Erkennungsmerkmal hin. Die Gelatine kann

durch Auftreten proteolytischer Fermente verflüssigt werden, wobei starker Geruch nach Ammoniak auftritt.

Hasper (20) arbeitete biologisch über Cladosporium, und zwar über *Cladosporium fulvum.* Sie fand in Tröpfchenkulturen Riesenzellen, für deren Entstehen sie vergebens eine Erklärung sucht.

In sauren Lösungen konnte keine Bildung von sogenannter „löslicher Stärke“ beobachtet werden (Boas, nach mündlicher Mitteilung).

Über einen bisher unbekannten Fall von Symbiose von Cladosporium und Dematium mit Algen berichtet Tengwall (51).

Auswahl des zu den Versuchen verwendeten Cladosporium-Stammes.

Von acht Reinkulturen, die aus Rußtau von einer Ulme, sowie von Kolonien auf Phaseolus, Ricinus und Gentiana isoliert wurden, wurde der am schnellsten wachsende Stamm, der aus dem Rußtau der Ulme isolierte, für die Versuche ausgewählt.

Um diesen Stamm morphologisch etwas genauer festzulegen, habe ich die am konstantesten bleibenden Teile des Pilzes, die Konidien gemessen, und zwar die Länge und die Breite von je 135 Konidien. Das Ergebnis habe ich in den beiligenden Zeichnungen festgelegt und die entsprechenden Messungen an dem von Gentiana isolierten Stamm beigegeben, um zu zeigen, daß durch diese Methode ein Cladosporium-Stamm tatsächlich bestimmbar zu sein scheint. Die Länge der Zellen und die Breite der Hyphen habe ich an einem 4 Tage alten, auf 10 $^0/_0$iger, ungehopfter Würze gewachsenen Myzel, das eben Konidien bildete, gemessen. Dabei habe ich zwischen Haupt- und Seitenästen unterschieden. Ferner habe ich die Endzellen der Seitenäste nicht mitgemessen, da dieselben wegen des Spitzenwachstums aus dem Rahmen der Ausmaße der übrigen Zellen herausfallen. Die einzelnen Werte habe ich in nachstehender Tabelle zusammengestellt.

Zellenlänge	Hauptäste μ	Seitenäste μ
Durchschnitt . . .	63,6	66,4
längste Zelle . . .	116	94,9
kürzeste Zelle . .	31,6	42,2

Hyphenbreite	Hauptäste μ	Seitenäste μ
Durchschnitt . . .	11,6	7,3
breiteste Hyphe . .	13,7	8,4
schmalste Hyphe .	10,5	5,2

Nach 9—10 Tagen tritt in Myzel, das unter normalen Bedingungen gewachsen ist, Fett auf. Das Fett ist in Form von Kügelchen ausgebildet und mehr oder minder reihenförmig angeordnet.

Methodik.

Der ausgewählte Stamm wurde etwa alle 4 Wochen auf Würzeagar-Röhrchen frisch abgeimpft. Zur Impfung der Nährlösungen wurden immer

nur Konidien dieser Röhrchen verwendet. Geimpft wurde mit kräftigen Konidienaufschwemmungen in sterilem Wasser, da so eine gleichmäßigere Impfung als mit der Impfnadel erreicht wurde.

Alle Versuche wurden bei einer Zimmertemperatur von ungefähr 20 Grad ausgeführt.

Die verwendeten Erlenmeyerkolben bestanden aus Schott'-schem Jenaer Glas mit dem Stempel V 20, die jeweilige Größe ist bei den einzelnen Versuchen angegeben.

Zu den Nährlösungen wurde nur destilliertes Wasser und sofern nichts anderes angegeben ist, Merck'sche Salze pro analysi verwendet.

Zur Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentrationen diente das Elektroionometer nach Lüers. In vielen Fällen wurden diese Werte auch mit Hilfe von Indikatoren bestimmt. Zur Bestimmung alkalischer Reaktionen wurde das Folienkolorimeter nach Wulff benützt. Die Messungen wurden aber immer erst einen Tag nach dem Sterilisieren ausgeführt, um die beim Erhitzen der Nährlösungen entstandenen Änderungen berücksichtigen zu können. Bei sämtlichen Versuchen waren immer ein bis zwei Kontrollreihen aufgestellt, um immer zu Nebenprüfungen Kulturen und Lösungen zur Hand zu haben. Das Einstellen von Nährlösungen auf ein bestimmtes pH wurde mit HCl bzw. mit Na_2CO_3 gemacht.

Die Erntegewichte wurden gewichtsanalytisch bestimmt. In Goochtiegel wurde statt Asbest eine Scheibe Filtrierpapier eingelegt und die Tiegel dann im Trockenschrank erhitzt und nach Erkalten gewogen. Hierauf wurde die Nährlösung samt dem Myzel in die Tiegel gegeben und die Nährlösung abgesaugt. Dann wurde das Myzel im Tiegel mit destilliertem Wasser gründlich abgespült und im Trockenschrank bei 90 Grad eine Stunde getrocknet. Nach Erkalten im Exsiccator wurde wieder gewogen.

Das Keimfreimachen der Nährlösungen erfolgte durch halbstündiges Sterilisieren im Dampftopf. Stoffe, die durch dieses lange Erhitzen hätten zersetzt werden können, wie z. B. Harnstoff oder Ammoniumsalze in nennenswert alkalischer Reaktion, wurden nach dem Sterilisieren steril zugegeben.

Sämtliche Kulturen waren vor zu starkem Licht durch Zudecken mit grauem Papier geschützt.

Die Ammoniakbestimmungen wurden durch 30 Minuten langes Destillieren von 10 ccm Nährlösung unter Zusatz von Kalilauge ausgeführt. Bei Lösungen, die organisch gebundenen Stickstoff enthielten, wurde bei einer 50 Grad nicht überschreitenden Temperatur im Vacuum unter Zusatz von MgO destilliert. Auf diese Weise sollte eine Spaltung der organischen Stickstoffverbindungen durch starkes Erhitzen oder durch zu starke Lauge verhindert werden. Der Rückstand wurde mit Nesslers Reagenz auf quantitative Entfernung des Ammoniak geprüft. Zum Auffangen des Ammoniaks wurde n/10 Schwefelsäure vorgelegt und diese mit Methylrot als Indikator

mit n/10 Natronlauge (Feinbürette) titriert, wobei 1 ccm n/10 Schwefelsäure 0,0014 g Stickstoff entsprechen.

Die Nitratbestimmung wurde genau nach den Angaben von Busch durchgeführt:

„Die Substanz (mit einem Gehalt von etwa 0,1 g Salpetersäure) wird in 80—100 ccm Wasser gelöst, 10 Tropfen verdünnte Schwefelsäure hinzugefügt, nahe zum Sieden erwärmt und die Flüssigkeit mit 10 bis 12 ccm Nitronacetatlösung (10 % Lsg. von Nitron in 5 % Essigsäure) versetzt. Man läßt das Gefäß alsdann anderthalb bis zwei Stunden in Eiswasser stehen, saugt den Niederschlag im Neubauertiegel ab, indem man mit dem Filtrat nachspült, und wäscht, nachdem die Flüssigkeit gut abgesaugt, mit 10—12 ccm Eiswasser nach. Das Waschwasser wird in kleinen Portionen aufgegossen, wobei man jedesmal wartet, bis die Flüssigkeit durchgesaugt ist. Der Niederschlag wird bei 110 Grad getrocknet, wobei man in $^3/_4$ Stunden Gewichtskonstanz erreicht. Die Berechnung erfolgt nach der Formel $C_{20}H_{16}N_4 \cdot HNO_3$, d. h. das gefundene Gewicht an Nitronnitrat $G \cdot \frac{63}{375}$ ergibt die Menge der vorhandenen Salpetersäure."

Die Bestimmung des organisch gebundenen Stickstoffs wurde mit der Formoltitration vorgenommen.

Keimung und Wachstum in Abhängigkeit vom Säuregrad.

Cladosporium kommt in der Natur gewöhnlich auf Nährböden vor, deren Säuregrade keine großen Schwankungen aufweisen. Die Werte dürften schätzungsweise zwischen pH 5 bis pH 7 liegen. Umso wichtiger ist die Frage nach den Grenzen des Lebens bei einem durch sein natürliches Vorkommen vermutlich in enge Grenzen eingeschlossenen Pilz.

Die erste Untersuchung galt der Abhängigkeit der Keimung von der Wasserstoffionenkonzentration [1]). Als Nährlösung diente eine Mischung von gleichen Teilen Hefewasser und Leitungswasser, dazu kamen 5 % Rohrzucker. In 50 ccm fassenden Erlenmeyerkolben wurden je 10 ccm dieser Nährlösung abgefüllt und die einzelnen Kolben auf W.I.K. von $1{,}4 \cdot 10^{-3}$ bis $3{,}9 \cdot 10^{-8}$ eingestellt. Nach kräftiger Impfung wurden Tröpfchenkulturen angelegt. Nach 10 Stunden trat überall Keimung ein, nur bei pH 4 erst nach 11 Stunden. Nach 13 Stunden wurden dann durch willkürliche Auslese die Längen der ausgekeimten Hyphen (immer die längsten) gemessen und der Durchschnitt der einzelnen Messungen festgestellt.

Die Messung ergab, daß bei pH 4 ein Keimungsminimum liegt. Da nun beim Isoelektrischen Punkt ein Minimum des Wachstums liegt (Pfeiffer 39, Boas 8), könnte es möglich sein, daß sich bei pH 4 ein I. E. P. befindet.

[1]) Wasserstoffionenkonzentration wurde der Einfachheit halber in Zukunft immer mit W.I.K. abgekürzt.

pH	2,85	3,45	4,0	4,5	4,87	5,82	7,2	7,4
Hyphenlänge nach 13 Stunden in μ	46,8 37,0 18,0 18,0 21,6 32,4 28,8	45,0 16,2 37,8 23,4 10,8 21,6 28,8 16,2	9,0 19,8 19,8 19,8 28,8 19,8	23,4 18,0 37,0 54,0 19,6 32,4	36,0 32,4 52,2 36,0 19,6 19,6 37,0 21,6	34,2 21,6 19,6 21,6 16,2 37,0 14,4 18,0	14,4 18,0 37,0 18,0 16,2 21,6 10,8	18,0 16,2 16,2 16,2 16,2
Durchschnitt	28,94	24,97	19,5	30,23	31,3	22,8	15,1	16,6

Dasselbe Bild erhält man, wenn aus obenstehender Tabelle die höchsten bzw. die niedrigsten Werte zusammenstellt werden:

pH	2,85	3,45	4,0	4,5	4,87	5,82	7,2	7,4
Längste Hyphe	46,8	45,0	28,8	54,0	52,2	37,0	37,0	18,0
Kürzeste Hyphe	18,0	10,8	9,0	18,0	19,6	16,2	10,8	16,2

Auch auf diese Weise erhält man bei pH 4 immer ein Wachstumsminimum.

Zusammenfassend kann man sagen, daß der Pilz bei allen diesen untersuchten pH-Stufen gute Entwicklungsmöglichkeiten hat, also zwischen einer Wasserstoffionenkonzentration von $1{,}4 \cdot 10^{-3}$ bis $3{,}9 \cdot 10^{-8}$.

In diesen Tröpfchenkulturen neigt der Pilz zur Bildung von vegetativen Anastomosen. Auf diesen Nebenbefund will ich nicht näher eingehen, ich verweise auf die Arbeiten von Köhler (29).

Bei einem Bestimmungsversuch eines möglichen I.E.P. wurde beobachtet, daß im sauren, wie auch im alkalischen Gebiet die Nährlösung stark schleimig wurde. So lag es nahe, den Einfluß der Reaktion auf die Viscosität der mit dem Schleim durchsetzten Nährlösung zu untersuchen, um auf diesem Wege den I.E.P. des Schleimes zu bestimmen.

Es wurden außer den üblichen Kontrollreihen 9 Versuchsreihen mit je zwei 100 ccm Erlenmeyerkolben mit je 50 ccm derselben Nährlösung wie im vorhergehenden Versuch angesetzt. Die Impfung erfolgte am 2. Dezember 1930, die Bestimmung der Viscosität wurde am 10. Februar 1930 mittels eines Ostwaldschen Viscosimeters vorgenommen und ergab ein Viscositätsminimum bei einer W.I.K. von pH = 3,7.

Die Werte sind in folgender Tabelle in 1/5 sec. zusammengestellt.

2. Dezember 1930 pH	2,9	3,1	3,55	3,7	4,35	4,8	5,1	8,6	9,1
Auslaufzeit in sec.	—	$\frac{410}{5}$	$\frac{344}{5}$	$\frac{304}{5}$	$\frac{307}{5}$	$\frac{324}{5}$	$\frac{306}{5}$	$\frac{345}{5}$	$\frac{375}{5}$
10. Dezember 1930 pH	—	3,0	3,3	3,7	4,2	4,8	5,2	5,9	7,1
10. Dezember 1930 Erntegewicht in g	—	0,027	0,135	0.267	0,290	0,240	0,266	0,123	00,6

Die Viscosität weist also bei pH 3,7 ein Minimum auf, also liegt hier vermutlich der I.E.P.

Bei dieser versuchsweisen Bestimmung des I.E.P. des Schleimes wurde naturgemäß auch das mikroskopische Aussehen des Pilzes mit untersucht, um den Einfluß der verschiedenen Säuregrade auf die Pilzzelle zu bestimmen. Dabei wurde die auffallende Beobachtung gemacht, daß bei einer W.I.K. von pH = 9,1 Einlagerungen und Ausstülpungen entstanden waren, ähnlich wie sie Boas (12) bei *Aspergillus Oryzae* gefunden hat. Diese färbten sich aber hier bei Cladosporium mit Jod nicht blau. Vielleicht handelt es sich hier um Stoffe pektinartiger Natur.

Eine am 7. Dezember 1930 angestellte Beobachtung des Versuches zeigte weiter, wie sehr die Entwicklung bzw. das Aussehen des Pilzes in verschiedener Hinsicht von der W.I.K. abhängt. So konnte schon aus der Farbe des Myzels auf das Wachstum geschlossen werden. Zwischen pH 2,1 bis 4,5 war die Farbe hellgrün und ebenso zwischen pH 8,6 bis 9,1, während bei pH 4,1 und 5,1 die normale olivgrüne Farbe vorhanden war. Da nun diese Farbe nur die Folge der Konidienbildung ist, so sieht man, daß bei pH 4,8 und 5,1 die Konidienbildung am stärksten ist. Bei pH 2,9 war erst ganz wenig submerses Myzel entwickelt, was bei allen anderen pH-Stufen auch vorhanden war.

Bei pH 3,1 und 3,55 waren nur am Rand der Versuchskolben Inselchen gebildet, dagegen war bei pH 3,7 schon ein vollständiges, an der Glaswand etwas hochgezogenes Randmyzel vorhanden. Bei pH 4,35, 4,8 und bei pH 5,1 waren außer Randmyzel schon Inselchen gebildet. Diese waren bei pH 4,35 stark gewölbt, als ob sich der Pilz von der Nährlösung wegheben wollte. Bei pH 8,6 und 9,1 war das Wachstum schwächer, Randmyzel war nur wenig entwickelt und die auch hier wieder gewölbten Inselchen wurden weniger.

Man sieht also schon mit dem bloßen Auge, daß das Wachstum in stark saurem, wie auch in alkalischem Gebiet hinter dem Wachstum in schwach saurem zurückbleibt.

Bei den vorhergehenden Versuchen hatte sich die Wahrscheinlichkeit eines I.E.P. ergeben. Vielleicht könnte man diesen Punkt auf noch andere Weise erhalten.

Wenn man nämlich als Stickstoffquelle NH_4PO_3 gibt, soll nach dem Robbin-Effekt rechts vom I.E.P. vorzugsweise NH_3 verbraucht werden und links vom I.E.P. vorzugsweise NO_3 verbraucht werden. Darauf hat z. B. schon Rippel (41) in seinen Untersuchungen hingewiesen. In beiden Fällen entsteht dann eine starke Reaktionsverschiebung. Die Zone der geringsten Reaktionsverschiebung würde dann dem I.E.P. naheliegen. So könnte man den I.E.P. auch bestimmen.

Hierzu habe ich folgenden Versuch angesetzt.

Zuerst will ich aber folgendes Generalschema zum Verständnis des Robbin-Effektes aufzeichnen.

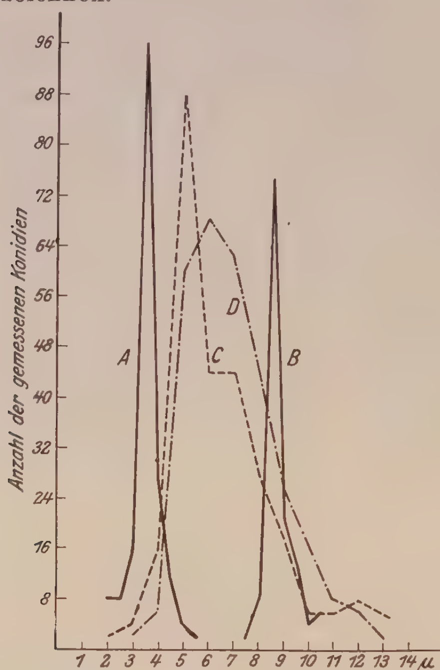


Abb. 1. ———— Schwankungen der Konidienbreite: A. des aus dem Rußtau der Ulme isolierten Stammes. B. des von Gentiana isolierten Stammes.

Abb. 2. ------ Schwankungen der Konidienlänge des aus dem Rußtau der Ulme isolierten Cladosporium-Stammes.

Abb. 3. —.—.— Schwankungen der Konidienlänge des von Gentiana isolierten Cladosporium-Stammes.

Der Versuch wurde in zwei Reihen mit zwei verschiedenen Nährlösungen durchgeführt:

1. Würze und Wasser zu gleichen Teilen mit 0,4 % NH_4NO_3.
2. Hefewasser mit 0,4 % NH_4NO_3 und 5 % Rohrzucker.

Verwendet wurden 100 ccm-Erlenmeyerkolben mit je 30 ccm Nährlösung. Die verschiedenen Ausgangssäuregrade, Einteilung und Ergebnis dieses Versuches sind aus der Tabelle und den Zeichnungen zu ersehen. Die mit Nr. 0 bezeichneten Reihen enthielten kein NH_4NO_3.

Nr.	Würze				Hefewasser			
	0	1	2	3	0	1	2	3
30. April 1931 pH	5,5	3,2	5,1	7,0	6,8	3,75	4,6	7,3
6. Mai 1931 pH	5,4	3,2	4,6	5,9	6,5	—	4,5	6,3
Erntegewicht in g	0,087	0,020	0,096	0,170	0,031	—	0,090	0,075
10. Mai 1931 pH	5,3	3,0	4,0	4,5	6,3	3,4	3,4	6,0
Erntegewicht in g	0,200	0,045	0,196	0,322	0,065	0,025	0,180	0,096
18. Mai 1931 pH	4,7	2,6	2,7	4,4	6,0	2,7	2,6	6,2
Erntegewicht in g	0,400	0,104	0,425	0,408	0,174	0,106	0,300	0,166

Um nun anschaulich vor Augen zu führen, wie viel H-Ionen der Pilz aus Ammonnitrat freigemacht hat, wurden aus den Ausgangs- und End-pH-Zahlen die tatsächliche Menge der gebildeten H-Ionen[1]) errechnet. (Siehe Abb. 4.)

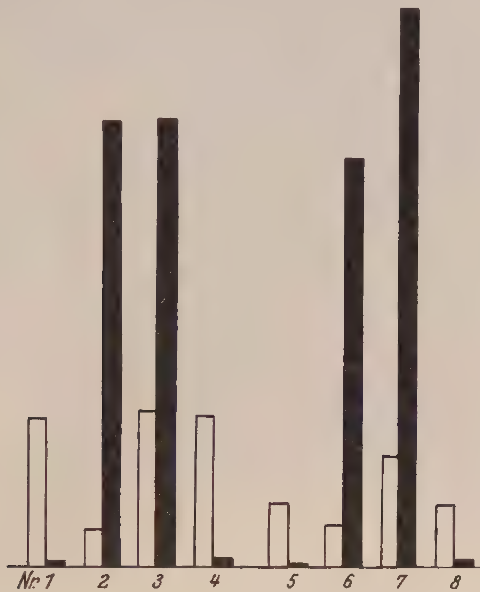


Abb. 4.

Zusammenstellung der Erntegewichte (umrandet) vom 18. Mai 1931 des Versuches mit Würze-Ammonnitrat und mit Hefewasser-Ammonnitrat verschiedener Ausgangs-pH und der bis dahin freigewordenen H-Ionen (schwarz).

Nr. 1. Würzereihe (ohne Ammonnitrat) mit Ausgangs-pH 5,5
„ 2. „ } mit Ammonnitrat „ „ 3,2
„ 3. „ } mit Ammonnitrat „ „ 5,1
„ 4. „ } mit Ammonnitrat „ „ 7,0
„ 5. Hefewasserreihe (ohne Ammonnitrat) „ „ 6,8
„ 6. „ } mit Ammonnitrat „ „ 3,75
„ 7. „ } mit Ammonnitrat „ „ 4,6
„ 8. „ } mit Ammonnitrat „ „ 7,3.

Nr.	Würze				Hefewasser			
	0	1	2	3	0	1	2	3
	51 · 10−8	6000 · 10−8	6000 · 10−8	120 · 10−8	2,5 · 10−8	5400 · 10−8	7500 · 10−8	45 · 10−8

Bei Verwendung von Hefewasser als Nährlösung wurden in der Reihe Hefewasserreihe mit Ausgangs-pH 7,3 vom 30. April 1931 bis zum 10. Mai 1931 $95{,}10^{-8}$ H-Ionen gebildet. Dann erfolgte ein Sinken von pH 6,0 auf pH 6,2, sodaß wieder 50.10^{-8} H-Ionen verloren gehen und bei Abschluß des

[1]) Wegen der zeichnerischen Darstellung wurden alle Werte auf 10^{-8} umgerechnet.

Versuches nur noch $45{,}10^{-8}$ H-Ionen vorhanden waren. Trotz dieses Sinkens der W.I.K. steigt die Ernte von 86 mg auf 106 mg. Es ist unentschieden, ob hier ein plötzlicher Verbrauch von NO_3 infolge Passierens eines I.E.P. eintritt. Jedenfalls ist diese Erscheinung auffallend.

In der graphischen Darstellung (s. Abb. 4) ist die jeweilige Pilzmenge mit der von ihr gebildeten Menge H-Ionen zusammengestellt.

Die Abbildungen 5 und 5a zeigen das verschiedene Ansteigen der W.I.K. und zugleich das Zunehmen der Erntegewichte. Hier fällt zunächst

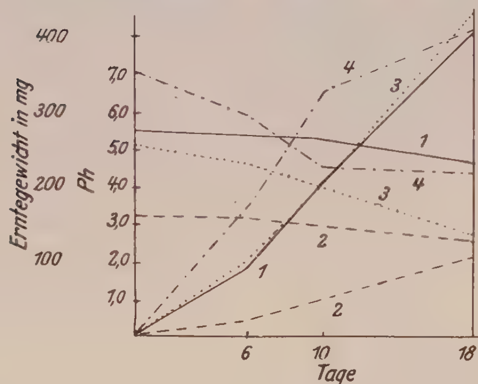


Abb. 5.

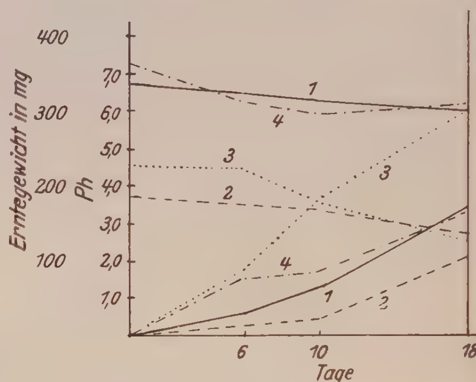


Abb. 5a.

Abb. 5. pH-Verlauf und Erntekurven in Würze-Ammonnitratreihen mit verschiedenen Ausgangs-pH.

1. mit Ausgangs-pH 5,5 (ohne Ammonnitrat) ————
2. „ „ „ 3,2 — — — —
3. „ „ „ 5,1 ....
4. „ „ „ 7,08 — . — . — . —

Abb. 5a. pH-Verlauf und Erntekurven in Hefewasser-Ammonnitrat-Reihen mit verschiedenen Ausgangs-pH.

1. mit Ausgangs-pH 6,8 (ohne Ammonnitrat) ————
2. „ „ „ 3,75 — — — —
3. „ „ „ 4,6 ....
4. „ „ „ 7,3 — . — . — . —

das geringe Ansteigen der W.I.K. in reiner Würze und in reinem Hefewasser auf. Daraus kann man schließen, daß der Pilz selbst wohl kaum Säure bildet, solange er mit organischen Stickstoffquellen wächst. In sämtlichen anderen Reihen wird offenbar der NH_3-Stickstoff des Ammoniumnitrats verbraucht, was durch das Ansteigen der W.I.K. angezeigt ist. In der letzten Hefewasserreihe mit Ausgangs-pH 7,3 tritt vielleicht andeutungsweise bei pH 6 ein Wendepunkt ein. Hier wird die Nährlösung wieder schwach alkalisch, während das Erntegewicht von 86 mg auf 106 mg steigt. In diesem Punkt ist es möglich, daß entweder NH_4NO_3 als ganzes Molekül verbraucht wird oder daß zwischen pH 6,0 und 6,2 NO_3 als Stickstoffquelle bevorzugt wird. Es besteht jedenfalls die Möglichkeit, daß dieser Wende-

punkt eine Folge des vorher beschriebenen Robbin-Effektes ist und daß so zwischen pH 6 und pH 7 die Andeutung eines zweiten I.E.P. sein könnte. Auf die Möglichkeit zweier I.E.E. deutet auch die beim ersten Versuch erhaltene und in Abb. 4 wiedergegebene Kurve hin, die in der Gegend von pH 7 ein zweites Minimum hat.

Daß solche mehrfache I.E.P. in der Zellphysiologie angenommen werden, zeigt die Zusammenstellung bei Mevius (35). Ähnliches ergibt sich aus den Arbeiten von Strugger (50).

Beim Vergleich der freigewordenen H-Ionenmengen (Reihen 2, 3 und 4, s. Abb. 7) fällt die geringe Menge der in Reihe 4 freigewordenen H-Ionen auf. Es besteht die Möglichkeit, daß der Pilz hier entweder NO_3 mitverbraucht hat, oder NH_4NO_3 als ganzes Molekül verbraucht oder die anorganische Stickstoffquelle nur in Spuren verwendet hat. Aus dieser scheinbaren Änderung des Säurestoffwechsels kann aber nicht auf eine Andeutung eines I.E.P. geschlossen werden.

Ob hier die anorganische Stickstoffquelle vielleicht gar nicht verbraucht wurde, bleibt offen. Die Übereinstimmung mit Nr. 1 ist jedenfalls so gut, daß man hier eine fast ausschließliche Verarbeitung von organischem Stickstoff annehmen könnte. Auf jeden Fall liegt ein interessantes Ergebnis vor, daß zu Vergleichen mit anderen Pilzen anregt, besonders da dieses Ergebnis zweimal (s. Abb. 7, 8) im gleichen Sinn gefunden wurde.

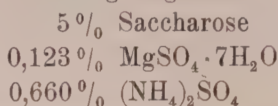
Zur Osmophilie.

Im Rußtau findet sich oftmals Cladosporium. Es liegt deshalb besonders nahe, die Osmophilie von Cladosporium näher zu untersuchen. Kattermann (26) hat die Frage, soweit Mineralsalze in Frage kommen, z. T. allerdings von ganz anderen Gesichtspunkten aus, schon behandelt. Bruhne (15) machte bei *Hormodendron hordei* zahlreiche Versuche mit verschiedenen Konzentrationen einiger Salze. Beneke (4), der in einer Arbeit über Kalium- und Magnesium-Wirkung bei *Aspergillus niger* berichtet, geht leider auf die Phosphatwirkung nicht ein, obwohl er Kaliumphosphat verwendet.

Ich habe nun ein alkalisch reagierendes Salz, nämlich K_2HPO_4 verwendet, um zugleich Salz- und Alkali-Resistenz zu prüfen. Weder Bruhne noch Kattermann haben dies untersucht, obwohl dieses Salz als wichtige Phosphatquelle ein ganz besonderes Interesse beansprucht.

Daß ich gerade K_2HPO_4 zu dieser Untersuchung gewählt habe, hat seinen Grund auch darin, daß es notwendig erschien, für die weiteren Versuche, in denen vorzüglich synthetische Nährlösungen zur Anwendung kamen, zu wissen, welche Mindestmenge Phosphat nötig ist, um eine normale Entwicklung von Cladosporium zu erreichen. Unnötig hohe Phospatmengen würden durch ihren entsprechend großen Pufferungseffekt ein Ansteigen der W.I.K. verschleiern, was möglichst vermieden werden sollte.

Es wurden 34 Versuchsreihen mit je zwei 50 ccm Erlenmeyerkolben mit je 25 ccm folgender Nährlösung angesetzt:



5 % Saccharose
0,123 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
0,660 % $(NH_4)_2SO_4$

In 32 dieser Reihen kamen gleichmäßig von 50 % bis 4 % absinkende Mengen K_2HPO_4, die beiden letzten Reihen enthielten gar kein Phosphat. Die Impfung erfolgte am 20. Januar 1931.

Nach 12 Tagen konnte man dann das Wachstum auf den einzelnen Konzentrationen vergleichend beobachten. Man erhielt folgendes Bild:

1. Bestes, normales Wachstum bei einem Phosphatgehalt von 0,4 % — 0,08 %.
2. Normale grüne Farbe bei einem Phosphatgehalt von 0,4 % — 0,08 %.
3. Hellere, blaßgrüne Farbe bei einem Phosphatgehalt von 4 % — 0,8 % und 0,04 % — 0 %.
4. Zunahme des Unterwassermyzels bei einem Phosphatgehalt von 4 % — 0 %.
5. Allmähliche Abnahme des Wachstums von 0,08 % bis 0 %.
6. Ohne Phosphatgehalt Bildung einer hautartigen, unvollständigen Decke mit einigen grünlichen Stellen.
7. Ende des Wachstums bei einem Phosphatgehalt von höher als 8 %.

Im einzelnen hatten sich in der Zeit von 12 Tagen bei einer Phosphatkonzentration von 4 % bis 0,8 % zahlreiche gehobene kleine Inseln gebildet. Bei einer Konzentration von 0,4 % bis 0,08 % war eine normale, glatte, grüne Decke gebildet und von 0,08 % an nahm das Wachstum wieder ab und die Farbe des Myzels wurde wieder heller.

Da nun die Farbe des Myzels die der Konidien ist, so folgt aus diesen Beobachtungen, daß durch zu große Mengen Phosphat die Konidienbildung gehemmt wird. Über ähnliche Beobachtungen berichtet Watermann (53) bei *Aspergillus niger*. Auch bei zu geringen Phosphatmengen werden nur wenig Konidien entwickelt.

So wurde nun ein Phosphatgehalt der Nährlösungen von 0,4 % bis 0,08 % als der günstigste gefunden und für die weiteren Versuche 0,094 % als Phosphatgehalt der Nährlösungen gewählt.

Nach 34 Tagen wurden bei Phosphatkonzentrationen von 10 % und 16 % kleine kugelige Gebilde submersen Myzels entdeckt, die eine rosarote Farbe hatten. Die Hyphen waren viel breiter als bei normalem Myzel, sie enthielten viel Fett, wie sonst altes Myzel, und waren an den Enden teilweise gequollen.

Nachdem während weiterer 14 Tage keine Veränderung dieser rosaroten Kolonien zu beobachten war, wurde eine dieser Kolonien in Würze übergeimpft, wo sich bereits nach drei Tagen eine normale Insel von Cladosporium gebildet hatte.

Das Entstehen dieses rosaroten Pigmentes darf wohl als ein Zwischenstadium bei der Bildung des grünen Farbstoffes aufgefaßt werden, das hier zur Anhäufung kommt. Es kann aber auch als Stoffwechselprodukt bei der Bildung des dunklen Farbstoffes hier zur Anhäufung kommen. Diese letztere Theorie vertritt Barnes (3), der aus erhitzten Konidien von *Botrytis* auch rosa gefärbtes Myzel als Übergangsfarbe zum normalen dunkleren Myzel beobachtete.

Zur Kohlenstoffversorgung.

Als Kohlenstoffquellen wurden Saccharose, Maltose, Dextrose und Glyzerin untersucht, mit Saccharose und Maltose wurden je zwei Versuchsreihen aufgestellt mit jeweils verschiedenen Konzentrationen dieser Zucker.

Als Grundlösung wurde verwendet:

0,123 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
0,174 % K_2HPO_4
0,4 % NH_4NO_3.

Der Versuch wurde in 100 ccm Erlenmeyerkolben mit je 40 ccm Nährlösung durchgeführt. Die W.I.K. wurde durch Zusatz von etwas Salzsäure erhöht, um feststellen zu können, bis zu welcher höchsten W.I.K. der Pilz noch wächst. Denn bei zu langer Versuchsdauer wäre dies infolge eintretender Proteolyse nicht zu erkennen.

Am 25. Januar 1931 wurde geimpft. Die Konzentrationen der verschiedenen Kohlenstoffquellen sind aus der Tabelle zu ersehen.

Bei einer Beobachtung am 1. Februar 1931 war das Wachstum folgendermaßen entwickelt:

Auf 0,27 Mol Saccharose: Deckenbildung aus kleinen Inseln beinahe vollzogen, Farbe hellgrün.

Auf 0,45 Mol Saccharose: Wachstum schwächer als auf 0,27 Mol Saccharose, zahlreiche kleine Inseln, Farbe hellgrün.

Auf 0,27 Mol Maltose: Die Deckenbildung aus größeren Inseln vollzogen, Farbe grün, Decke stark gewölbt (s. Abb. 18).

Auf 0,45 Mol Maltose: Wachstum stärker als auf 0,27 Mol Maltose, Farbe grün, Decke stark gewölbt.

Auf 0,2 Mol Dextrose: Wachstum in der Mitte von dem auf 0,27 Mol Saccharose und 0,45 Mol Saccharose.

Die höchsten Erntegewichte liefert Maltose. Es bleibt aber hier die Frage offen, ob die Maltose infolge ihrer Konstitution oder infolge ihrer „Unreinheit" so gute Erntegewichte liefert. Maltose ist ja nie so rein zu erhalten wie z. B. Saccharose. So besteht die Möglichkeit, daß in der Maltose Biokatalysatoren enthalten sind und diese das gute Wachstum bedingen. Noch weniger rein als Maltose ist Fruktose, weshalb diese zu diesen Untersuchungen überhaupt nicht verwendet wurde.

	Sacch. 0,27 Mol	Sacch. 0,45 Mol	Malt. 0,27 Mol	Malt. 0,45 Mol	Dextr. 0,2 Mol	Glycerin 0,2 Mol[1])
25. Januar 1931 pH . .	6,25	6,25	6,2	6,1	6,3	6,35
2. Februar 1931 pH . .	3,25	5,15	2,3	1,8	5,3	—
Erntegewicht in g . .	0,206	0,093	0,300	0,600	0,037	—
5. Februar 1931 pH . .	2,3	2,0	—	1,7	2,8	—
Erntegewicht in g . .	0,296	0,498	—	0,819	0,150	—
9. Februar 1931 pH . .	2,3	2,35	2,0	—	2,7	—
Erntegewicht in g . .	0,500	0,680	0,745	—	0,243	—
13. Februar 1931 pH . .	2,1	2,0	—	1,95	2,45	—
Erntegewicht in g . .	0,550	0,813	—	0,980	0,342	—
18. Februar 1931 pH . .	2,2	1,8	1,9	2,0	2,1	—
Erntegewicht in g . .	0,661	0,894	0,761	1,032	0,532	—

Eindeutig geht aus dem Versuch hervor, daß das Wachstum von Cladosporium auf Saccharose und Maltose proportional der gebotenen Zuckermenge zunimmt. (Siehe Abb. 6), während z. B. Rubener (43) berichtet, daß bei Hefe eine weitgehende Unabhängigkeit von der Zuckerkonzentration besteht.

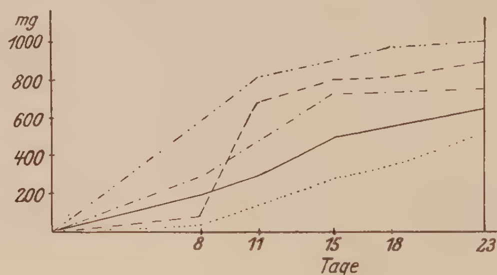


Abb. 6.

Erntekurven bei verschiedenen Kohlenstoffquellen.

0,27 Mol Saccharose ———————— 0,27 Mol Maltose —.—.—.—

0,45 Mol Saccharose — — — — — 0,45 Mol Maltose —..—..—..

0,2 Mol Dextrose . . . .

Entsprechend dem stärkeren Wachstum auf konzentrierteren Zuckerlösungen wird natürlich auch der Stickstoffverbrauch gesteigert. Da ja hauptsächlich Ammoniakstickstoff verbraucht wird, so wird dem Wachstum durch das raschere Sauerwerden der Nährlösung schneller eine Grenze gesetzt. Als höchste W.I.K. wurde pH 1,8 gemessen.

Die nächstbeste Kohlenstoffquelle nach der Saccharose ist die Dextrose.

Eine völlige Sonderstellung nimmt das Glyzerin in synthetischer Nährlösung ein. Bei Verwendung von Glyzerin als Kohlestoffquelle ergibt sich nämlich folgendes:

1. stark verspätetes Wachstum,
2. nur submerses Wachstum,
3. submerse Konidienbildung.

[1]) Ernte zu klein, um bestimmbar zu sein.

Erst 16 Tage nach der Impfung war am Boden der Glyzerinkolben ein schwacher grüner Belag zu sehen, durchsetzt mit Kristallen, die als Magnesium-Ammonium-Phosphat identifiziert werden konnten. Dieses submerse Myzel hatte außerordentlich viele Konidienstände. Die Konidien waren rundlich, nicht so eiförmig wie sonst, und kleiner aber zahlreicher an den Ständen (s. Abb. 10). Nach weiteren 23 Tagen hatte der Bodenbelag zugenommen, die Farbe war olivgrün. Auf der Oberfläche der Nähr-

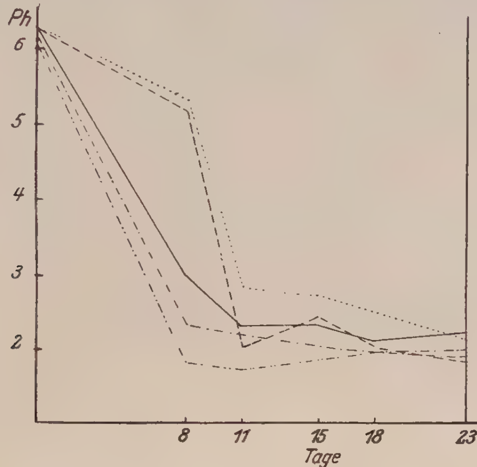


Abb. 7.

pH-Verlauf bei verschiedenen Kohlenstoffquellen.

0,27 Mol Saccharose ———————— 0,27 Mol Maltose —.—.—.—

0,45 Mol Saccharose — — — — — 0,45 Mol Maltose —..—..—..

0,2 Mol Dextrose ....

lösung zeigte sich später vereinzelt kümmerliches Wachstum und zahlreiche hefeähnliche Konidienverbände, von denen man annehmen kann, daß sie durch hefeähnliche Sprossung der Konidien entstanden sind. Aber in Tröpfchenkulturen, die aus dieser Nährlösung mit eben diesen Konidienverbänden angelegt wurden, konnte eine solche fortgesetzte Sprossung nicht beobachtet werden. In Würze gebracht, entwickelte sich aus diesen Konidien wieder normales Cladosporium. Die W.I.K. der Nährlösung war dieselbe wie bei der Impfung.

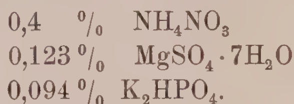
Bemerkenswert ist noch die Farbe der Unterseiten der am 18. Februar 1931 abgeernteten Mycelien:

0,27	Mol	Saccharose:	hellgelb
0,45	„	„	grüngelb
0,27	„	Maltose:	dunkelgrün
0,45	„	„	dunkelgrün (dunkler als auf 0,27 Mol)
0,2	„	Dextrose:	dunkelgrün.

Also auch die Farbe der Myzelunterseite scheint von der Kohlenstoffquelle beeinflußt.

Um festzustellen, ob vielleicht das Glas und seine Lösungsprodukte für dieses eigenartige Bild des Wachstums in Glyzerin verantwortlich sind, wurde die Glyzerinreihe des vorhergehenden Versuches noch einmal in Quarzkolben und in den sonst gebrauchten Glaskolben wiederholt. Außerdem wurden noch zwei Versuchsreihen mit höherem Glyzeringehalt in den üblichen Kolben angesetzt. Da Glyzerin eine niedere Dielelektrizitätskonstante hat, war schon aus diesem Grunde eine Änderung der Glyzerinkonzentrationen nötig, um zu sehen, ob vielleicht eine Änderung der D.E.K. einen Einfluß auf das Wachstum des Pilzes hat.

Als Nährlösung wurde wieder verwendet:



0,4 % NH_4NO_3
0,123 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
0,094 % K_2HPO_4.

Je 30 ccm der Nährlösung kamen in 100 ccm Erlenmeyerkolben. Dazu kamen nun verschiedene Glyzerinmengen:

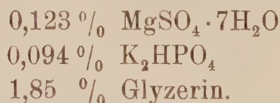
in die Quarzkolben: 1/5 Mol
in die Jenaer V20-Kolben: 1. 1/5 Mol
2. 1/3 Mol
3. 1/2 Mol.

Am 4. März 1931 wurde geimpft.

Nach 5 Tagen konnte man überall das erste Wachstum sehen. Nach 11 Tagen war überall ohne Unterschied eine submerse grüne Decke zu erkennen und nach weiteren 6 Tagen, also 17 Tage nach der Impfung, zeigten sich auf der Oberfläche Konidienhäufchen. Hieraus geht eindeutig hervor, daß weder das Glas und seine etwaigen Lösungsprodukte, noch die Menge des gebotenen Glyzerins einen Einfluß auf die submerse Konidienbildung haben.

Weiter erhebt sich die Frage, ob bei dieser submersen Konidienbildung die Art des gebotenen Stickstoffs eine Rolle spielt. Deshalb wurde ein neuer Versuch mit verschiedenen Stickstoffquellen angesetzt, um vielleicht auf diese Weise der Ursache der submersen Konidienbildung näher zu kommen.

Als Nährlösung wurde verwendet:



0,123 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
0,094 % K_2HPO_4
1,85 % Glyzerin.

Es wurden 3 Reihen angesetzt:

Die 1. Reihe mit 0,66 % $(NH_4)_2SO_4$
„ 2. „ „ 0,276 % NH_4Cl
„ 3. „ „ 0,505 % KNO_3.

Die Impfung erfolgte am 4. März 1931.

Nach 5 Tagen konnte man überall das erste Wachstum feststellen. Nach 9 Tagen war das Wachstum in Reihe 1 mit Ammonsulfat schwach

und grünlich, in Reihe 2 mit Ammonchlorid war es am stärksten und tiefgrün, und in Reihe 3 mit Kaliumnitrat war es ganz schwach, flockig und blaßgrün.

Nach 12 Tagen war das Wachstum in den Reihen mit Ammonsulfat und mit Ammonchlorid gleich stark, in der Reihe mit Kaliumnitrat schwächer und flockig. Auf der Oberfläche waren überall zahlreiche Konidienhäufchen.

Da Cladosporium, wie aus späteren Versuchen hervorgeht, auf Nitrat sehr langsam, aber bei genügend langer Versuchsdauer doch gut wächst, so scheint es, daß offenbar nur das Glyzerin für die submerse Konidienbildung verantwortlich ist.

Auf jeden Fall steht nach diesen Versuchsergebnissen fest, daß ein an sich aerob wachsender Pilz unter bestimmten Bedingungen auch fakultativ anaerob wachsen kann und, was ganz besonders auffallend ist, fertil.

Sicher ist in diesem Fall, daß das spezifische Gewicht des Pilzes, der viel Fett enthält, kleiner ist als das der soviel Glyzerin enthaltenden Nährlösung.

Zur Salzphysiologie.

Die physiologische Wirkung der Salze ist durch die Forschung der letzten Jahrzehnte so in den Vordergrund getreten — ich verweise auf die Arbeiten von Zondeck (55), Hoeber (23), Kaho (25), auf das phyletische Anionenphaenomen von Boas und andere — daß es bei einer monographischen Bearbeitung eines Pilzes unerläßlich ist, wenigstens in groben Umrissen, einige Beiträge zur Salzphysiologie zu bringen.

Von Neutralsalzen wurden $CaCl_2$, NaCl, KCl und $MgSO_4$ einzeln und in Kombination miteinander untersucht, wie aus der Tabelle ersichtlich ist.

Als Grundnährlösung wurde verwendet:

5,0 % Maltose
0,123 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
0,094 % K_2HPO_4
0,4 % NH_4NO_3.

In 100 ccm Erlenmeyerkolben kamen je 40 ccm Nährlösung. Dazu kamen dann die verschiedenen Salze. Die W.I.K. wurde durch Zusatz von etwas Salzsäure erhöht und in den einzelnen Reihen einander angeglichen. Die Impfung erfolgte am 17. Februar 1931. Das Ergebnis des Versuches ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Die Entwicklung des Myzels war überall ganz gleichmäßig. Nach 4 Tagen waren überall gleichviele kleine Inseln gebildet, die aber nicht flach, sondern gewölbt waren. Diese Wölbung, die den Anschein gibt, als ob sich der Pilz von der Nährlösung entfernen möchte, darf vielleicht in Zusammenhang gebracht werden mit der im folgenden Versuch festgestellten und abgebildeten Faltung und Wölbung der Myzeldecke (s. Abb. 18). Es scheint mir, als ob für diese Veränderung eine hohe Ionenkonzentration

verantwortlich ist, die in diesem Versuch schon von Anfang an durch die hohen Salzmengen vorhanden ist.

Zugesetzte Salze	1/20 Mol $CaCl_2$	1/20 Mol CaCl	1 20 Mol KCl	1/20 Mol $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1/20 Mol CaCl. + 1/100 Mol $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1/20 Mol KCl + 1/100 Mol $CaCl_2$	1/20 Mol $CaCl_2$ + 1/100 Mol NaCl	1/20 Mol NaCl + 1/20 Mol $CaCl_2$ + 1/100 Mol $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$
17. Februar 1931 pH .	5,0	5,5	5,4	5,2	5,0	5,1	5,0	5,0
24. Februar 1931 pH .	2,1	2,2	2,2	2,25	2,17	2,1	2,0	2,1
Erntegewicht g	0,260	0,241	0,268	0,327	0,265	0,275	0,267	0,267
3. März 1931 pH .	1,9	2,0	2,0	2,0	1,9	2,0	1,9	1,2
Erntegewicht g	0,505	0,420	0,470	0,600	0,490	0,470	0,456	0,425
9. März 1931 pH .	2,1	2,2	2,2	2,3	2,3	2,0	2,2	2,3
Erntegewicht g	0,490	0,410	0,440	0,582	0,431	0,523	0,515	0,460

Am 3. März 1931, also nach 14 Tagen, waren sämtliche Reihen leicht opaleszierend trübe, der Beginn einer Proteolyse schien soeben eingetreten zu sein. Die Myzelunterseiten waren überall grasgrün. 20 Tage nach Versuchsbeginn war die Proteolyse schon weit vorgeschritten, was aus dem Sinken der W.I.K. und aus dem teilweisen Abnehmen des Erntegewichtes ersichtlich ist.

Auffallend ist die Steigerung des Wachstums in der Reihe mit 1/20 Mol $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$. Die Frage, ob das Mg-Ion oder das Anion SO_4 für diese Förderung des Wachstums verantwortlich ist, kann nicht beantwortet werden, da ich weitere Magnesiumsalze nicht untersucht habe[1]). Bei den anderen angewandten Salzen konnte eine Wirkung nicht festgestellt werden.

Unter dem Einfluß von Säure entsteht nun bei vielen Pilzen ein Kohlehydrat, das mit Jod Stärkereaktion gibt (Boas 11, Schmidt 44). Bei Cladosporium war bis jetzt eine solche Substanz noch nicht nachgewiesen worden. Deshalb war es von Interesse, bei Cladosporium zu prüfen, ob auch hier unter dem Einfluß von Säure ein solches Kohlehydrat gebildet wird.

Tatsächlich waren in den am 9. März 1931 abgeernteten Myzelien und in den zugehörigen Nährlösungen bei genauer Prüfung überall kleine Mengen „löslicher Stärke" nachzuweisen.

Bei einer mikroskopischen Untersuchung des am 24. Februar 1931 abgeernteten Myzels hatten die Myzelfäden die abgebildete rosenkranzähnliche Form (siehe Abb. 8). Die einzelnen Zellen sind kürzer und etwas blasig geworden und teilweise dickwandiger. Es ist dies aber nicht eine spezifische Wirkung der Salze auf das Myzel, sondern diese Erscheinung wird durch das Ansteigen der W.I.K. verursacht, wie ich bei späteren Versuchen immer wieder beobachten konnte. Diese Bildung von Rosenkranz- oder Säuremyzel tritt etwa bei pH 3,5 ein.

[1]) Kombinierte Mg- und SO_4-Wirkung. Siehe hierzu: Boas, Die Pflanze als kolloides System, München-Freising, 1928.

Die am 3. März 1931 abgeernteten Nährlösungen wurden zur eventuellen Weiterverarbeitung aufbewahrt. Um ein Wachstum zu verhindern, wurden die Kolben zwischen Fenster und Vorfenster gestellt, wo eine Temperatur von Null Grad herrschte.

Neun Tage später bot sich folgendes überraschende Bild:

In den Kolben mit $MgSO_4$, $CaCl_2 + MgSO_4$, $KCl + CaCl_2$, $CaCl_2 + NaCl$ und $NaCl + CaCl_2 + MgSO_4$ hatte sich grünes, submerses, fertiles Myzel gebildet, also ähnlich wie bei Glyzerin (siehe S. 288).

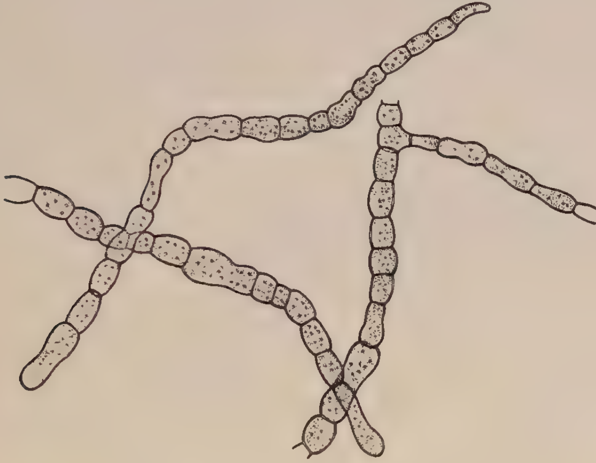


Abb. 8. Säuremyzel.

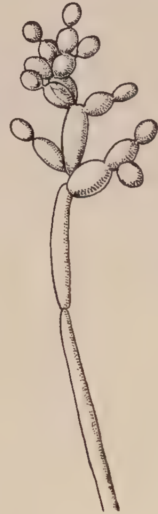


Abb. 9.
Normal entwickelter Konidienstand aus einer Würze-Tröpfchenkultur.

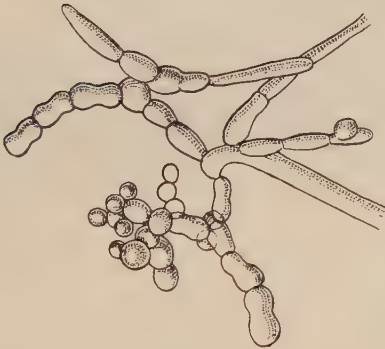


Abb. 10.
Submers entwickelter Konidienstand.

Im einzelnen waren in den Kolben Wachstumsunterschiede festzustellen:

Kolben mit $MgSO_4$: tiefgrüne Bodendecke.

„ „ 1/20 Mol $CaCl_2$ + 1/100 Mol $MgSO_4$: körnige, hellgelbe Bodendecke, gleichmäßig mit zahlreichen grünen Flecken besät.

Kolben mit 1/20 Mol KCl + 1/100 Mol $CaCl_2$: Bodendecke noch heller, aber mit weniger, dafür größeren grünen Stellen.

„ „ 1/20 Mol $CaCl_2$ + 1/100 Mol NaCl: wie im vorher beschriebenen Kolben, nur noch mehr grün.

„ „ 1/20 Mol NaCl + 1/100 Mol $CaCl_2$ + 1/100 Mol $MgSO_4$: wie in 1/20 Mol $MgSO_4$, aber das Wachstum war schwächer und die Farbe noch dunkler als dort.

Beim Mikroskopieren dieses fertilen submersen Myzels konnte man die völlige Übereinstimmung mit dem in glyzerinhaltiger Nährlösung gewachsenen feststellen. Die Konidien waren wieder kleiner und rundlich, die Konidienstände außerordentlich zahlreich, ganz kurz gestielt und mit sehr viel Konidien daran (siehe Abb. 10).

In dem Kolben mit 1/20 Mol $MgSO_4$ konnte ich nicht nur die übliche Ausbildung von den Querwänden in den Hyphen beobachten, sondern auch eine Zellteilung in allen drei Richtungen des Raumes, so daß eine an das bei manchen Chlorophyceen häufige Palmellastadium erinnernde Zellbildung entsteht (siehe Abb. 15).

Es wurde dann auch versucht, mit einfachen Reagenzien einen Einblick in den Zellinhalt des Myzels zu erhalten.

Mit Jodjodkali wurde auf Glykogen geprüft und zur Feststellung von Volutin wurde das Myzel nach folgender Methode gefärbt: Das Myzel wurde zuerst etwa zwei Minuten in 35 % Formaldehyd-Lösung fixiert, dann mit Wasser ausgewaschen und mit einer 0,1 % Methylenblau-Lösung etwa eine Minute lang unter leichtem Erwärmen gefärbt. Dann wurde mit 1 % Schwefelsäure differenziert (Meyer 36, Henneberg 21).

Glykogen konnte überall festgestellt werden, aber nirgends Volutin, was bei normalem, d. h. an der Oberfläche gewachsenem Myzel immer vorhanden ist. Dieses völlige Fehlen von Volutin läßt darauf schließen, daß hier der Nuclein-Stoffwechsel unter dem Einfluß der Kälte oder der gebrauchten Nährlösung oder unter dem gleichzeitigen Einfluß beider Faktoren in andere Bahnen geleitet wird.

Zur Stickstoffassimilation.

Cladosporium hat in der Frage der Erforschung der Eiweißbildung sehr früh eine gewisse Rolle gespielt. Laurent (32) hat nämlich gefunden, daß Cladosporium Nitrat verarbeitet. Er hat es deshalb zu den Nitratpilzen gerechnet, was sich aber später durch eine Arbeit Ritters (42) als ungenau erwiesen hat. Da bei dem so weit verbreiteten Pilz genaue quantitative Angaben über den Eiweißstoffwechsel fehlen, so sollen hier organische und anorganische Stickstoffquellen einer genaueren quantitativen Untersuchung unterzogen werden.

Zunächst wurden folgende 4 anorganische Stickstoffquellen untersucht: KNO_3, NH_4Cl, NH_4NO_3 und $(NH_4)_2SO_4$. Zum Vergleich wurde als organische Stickstoffquelle Asparagin in den Versuch mit einbezogen.

Nach verschiedenen Zeiträumen wurde dann das Wachstum beobachtet, die W.I.K., das Erntegewicht, und soweit es möglich war, der Stickstoffverbrauch bestimmt.

Als Nährlösung wurde verwendet:

8,0 % Maltose
1,348 % K_2HPO_4
0,123 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.

Dazu kam dann in verschiedenen Versuchsreihen je 1/20 Mol der verschiedenen Stickstoffquellen. Der Versuch wurde in 100 ccm Erlenmeyerkolben mit je 40 ccm Nährlösung angesetzt. Mit NH_4NO_3 wurden zwei Versuchsreihen angesetzt, wobei die W.I.K. der einen durch Zusatz von etwas Salzsäure erhöht wurde, um festzustellen, ob vielleicht das Ausgangs-pH einen Einfluß auf die Wahl der zwei hier zur Verfügung stehenden Stickstoffquellen hat. Die Impfung erfolgte am 8. Januar 1931. Die Ergebnisse sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt:

Zugesetzte Stickstoffquellen	1/20 Mol KNO_3 = 0,0699 % N	1/20 Mol NH_4Cl = 0,0699 % N	1/20 Mol NH_4NO_3 = 0,14 % N	1/20 Mol NH_4NO_3 = 0,14 % N	1/20 Mol $(NH_4)_2SO_4$ = 0,212 % N	1/20 Mol Asparagin = 0,137 % N
8. Januar 1931 pH	6,0	5,8	5,9	4,1	5,7	6,0
14. Januar 1931 pH	6,0	5,2	5,0	2,95	3,85	5,5
Erntegewicht in g	0,028	0,070	0,072	0,120	0,118	0,134
Verbrauchter N als NH_3 in g . . .	—	0,00128	0,00168	0,00288	0,00123	—
Verbrauchter N als NO_3 in g . . .	0,00032	—	—	—	—	—
17. Januar 1931 pH	5,85	3,1	2,9	2,2	3,0	4,8
Erntegewicht in g	0,145	0,155	0,194	0,323	1,153	0,252
Verbrauchter N als NH_3 in g . . .	—	0,0069	0,0058	—	0,0028	—
NO_3 in g . . .	0,0005	—	—	—		—
Amid	—	—	—	—	—	0,00872
19. Januar 1931 pH	5,8	2,55	2,45	1,93	2,4	4,5
Erntegewicht in g	0,077	0,200	0,240	0,375	0,254	0,280
Verbrauchter N als NH_3 in g . . .	—	0,012	0,0127	—	0,0112	—
NO_3 in g . . .	0,00029	—	—	—	—	—
Amid	—	—	—	—	—	0,0158
26. Januar 1931 pH	6,0	1,7	1,6	1,65	1,93	4,47
Erntegewicht in g	0,301	0,630	0,601	0,547	0,556	0,540

Nach fünf Tagen wurde der Stand des Wachstums festgelegt:

In der KNO_3-Reihe war das Myzel schleimig und locker, die Inselchen hatten nur in ihrer Mitte eine ganz kleine grüne Stelle, also die Konidienbildung war sehr schwach.

In den Reihen mit NH_4Cl und NH_4NO_3 waren zahlreiche kräftige

grüne Inselchen gebildet, die in der NH_4NO_3-Reihe mit Ausgangs-pH 4,1 gewölbt waren.

In der Reihe mit $(NH_4)_2SO_4$ war das Wachstum im Vergleich mit den besprochenen Reihen etwas gefördert.

Das beste Wachstum zeigte die Asparagin-Reihe.

Sieben Tage nach der Impfung war auf der Asparagin-Nährlösung schon eine flache, tief olivgrüne, geschlossene Decke gebildet. Diesem guten Wachstum kam das auf NH_4NO_3 mit Ausgangs-pH 4,1 am nächsten, wo die Deckenbildung beinahe vollzogen war. Aber hier war die Decke nicht flach, sondern stark gebuchtet. Parallel mit dieser förmlichen Veränderung

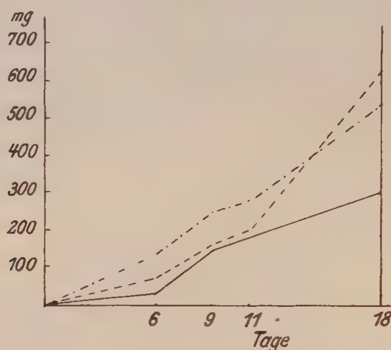


Abb. 11.
Erntekurven bei Anwendung verschiedener Stickstoffquellen.
Versuchsreihe mit KNO_3 ——————————
„ „ NH_4HCl — — — — — — —
„ „ Asparagin — · — · — · —

des Myzels geht eine Konsistenzänderung desselben, es wird nämlich lederartig fest. Beide Erscheinungen sind auf die stärker saure Reaktion zurückzuführen. Die W.I.K., bei welcher diese Wachstumserscheinungen auftreten, muß bei dieser Nährlösung zwischen pH 4 und 3,5 liegen. Bei sehr saurer Reaktion geht die Umgestaltung der Zellen soweit, wie in Abb. 12 dargestellt ist. Diese zeigt einen Myzelfaden der NH_4NO_3-Reihe mit Ausgangs-pH 4,1 bei einer W.I.K. von $2{,}5 \cdot 10^{-2} = \text{pH } 1{,}6$.

Auffallend ist das Konstantbleiben der W.I.K. in der KNO_3-Reihe. Hier müßte eigentlich durch den Verbrauch von NO_3 die Nährlösung alkalisch werden, da Cladosporium selbst gar keine oder nur eine ganz schwache Säure bildet, die natürlich durch das Pufferungssystem abgefangen wird. Es scheint also, daß hier keine ungleiche Ionenaufnahme stattfindet.

Wenn man die beiden bei der Ernte am 14. Januar 1931 erzielten Erntegewichte auf Ammonnitrat miteinander vergleicht, so scheint es, als ob eine höhere Wasserstoffionenkonzentration für die Entwicklung des Pilzes günstiger wäre wie eine niedrigere, dem Neutralpunkt näher liegende. Dies geht auch aus den Ernte- und pH-Kurven der Ammonchloridreihe

hervor: In der letzten Wachstumsperiode zwischen dem 11. und 18. Tag steigt die Erntekurve am stärksten.

Zusammenfassend kann nach den Ergebnissen dieses Versuches gesagt werden, daß Cladosporium Nitratstickstoff verarbeitet, wenn nur solcher vorhanden ist. Das Wachstum ist aber dann langsam, führt jedoch bei längerer Versuchsdauer zu ganz guten Ernten.

Wenn nur Ammoniakstickstoff vorhanden ist, wächst der Pilz rasch und gut, wenn neben Ammoniakstickstoff noch Nitratstickstoff vorhanden

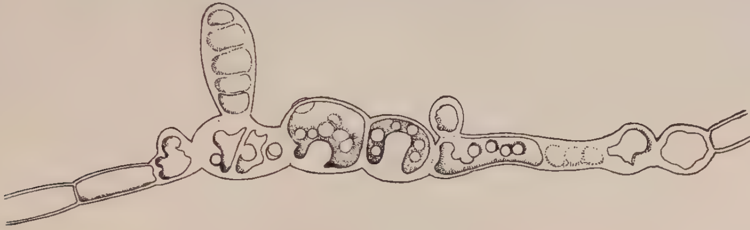


Abb. 12.
Myzelfaden bei einer W.I.K. von $2{,}5 \cdot 10^{-2} =$ pH 1,6.

ist, so wird vorwiegend der erstere verarbeitet. Dies geht schon aus dem Ansteigen der W.I.K. hervor, die bei Verarbeitung von NO_3 nahezu konstant bleibt.

Eine sehr gute Stickstoffquelle für Cladosporium scheint Asparagin zu sein, das ein gutes und normales Wachstum zuläßt. Dabei findet langsamere Säuerung statt. Infolgedessen ist für den Pilz ein Säureschaden oder gar ein Säuretod, wie bei der Verarbeitung von Ammoniumsalzen der starken Mineralsäuren, natürlich ausgeschlossen.

Auf die Weiterverarbeitung von NO_3 und NH_4 kann ich im Rahmen dieser Arbeit nicht eingehen. Ich verweise auf die Arbeiten von Kostitschew (30), Klein und Kisser (27), Pryanischnikow (40), Blom (6) und Klein, Eigner und Müller (28).

Organische Stickstoffquellen.

Nach der Darstellung der Wirkung einiger anorganischer Stickstoffquellen sollen auch einige organische zur Betrachtung zugezogen werden.

Ich wende zunächst Harnstoff an. Harnstoff gilt ja als gute Stickstoffquelle für Pilze (Czapek 18, Brenner 14). Ich wollte aber auch ähnlich wie bei den anorganischen Stickstoffquellen, den Ammoniumsalzen, feststellen, ob auch hier dem Wachstum des Pilzes durch Spaltung des Harnstoffs eine Bremswirkung entgegengesetzt wird, oder ein Alkalitod eintritt entsprechend dem bei Säurebildung dort möglichen Säuretod.

Es wurden drei Versuchsreihen mit verschiedenen Harnstoffmengen, 1/20 Mol, 1/2 Mol und 1 Mol Harnstoff, angesetzt, denen folgende Nährlösung zugrunde gelegt wurde:

5 % Saccharose,
0,094 % K_2HPO_4,
0,123 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.

In 100 ccm Erlenmeyerkolben kamen je 40 ccm Nährlösung. Am 28. Februar 1931 wurde geimpft. Das Ergebnis dieses Versuches ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Harnstoffmenge	1/20 Mol	1/2 Mol	1 Mol
28. Februar 1931 pH	7,8	8,0	8,7
11. März 1931 pH	6,85	7,4	—
Erntegewicht in g . .	0,057	0,074	—
14. März 1931 pH	6,9	—	—
Erntegewicht in g . .	0,053	—	—
17. März 1931 pH	6,6	7,5	—
Erntegewicht in g . .	0,075	0,122	—

Nach vier Tagen war in der Reihe mit 1/20 Mol Harnstoff eine weiße, schleimige Decke gebildet, die mit Streusandgroßen, grünen Inselchen

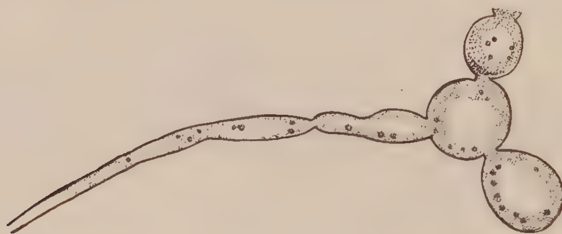


Abb. 13.
Riesenzellen im Harnstoff.

ziemlich dicht und gleichmäßig besät war. Das Myzel war dem auf Nitrat gewachsenen sehr ähnlich. In der Reihe mit einem halben Mol Harnstoff war ein eben sichtbares Randmyzel gebildet, während in der Reihe mit einem Mol Harnstoff überhaupt nichts gewachsen war.

Nach 13 Tagen waren in der Reihe mit 1/20 Mol Harnstoff aus der farblosen Decke einige wenige hocherhobene, grüne Inseln entstanden. In der Reihe mit einem halben Mol Harnstoff war jetzt auch eine farblose Decke gewachsen mit ganz wenig Konidien. Hier konnten beim Mikroskopieren Riesenzellen festgestellt werden (s. Abb. 13.) In der Reihe mit einem Mol Harnstoff ist auch jetzt noch nichts gewachsen.

Boas hat nun bei Cladosporium auf Harnstoff in Gegenwart von Maltose Selbstvergiftung gefunden, sie tritt durch übermäßige Bildung von Ammoniumkarbonat ein (Boas 9). Jedenfalls geht aus meinem Versuch hervor, der mit einer anderen Kohlenstoffquelle, nämlich mit Saccharose durchgeführt wurde, daß hier keine Selbstvergiftung eintritt.

Vergleich von Amid- und Imid-Stickstoff.

Harnstoff ist das Diamid der Kohlensäure. Leider stand ein Imid der Kohlensäure nicht zur Verfügung, um die Frage zu entscheiden, ob Amid- oder Imid-Stickstoff besser verarbeitet wird. Von Boas lag eine vereinzelte Angabe vor, daß bei Hefe ein wesentlicher Unterschied zwischen Amid- und Imid-Stickstoff bestehe (Boas 12), und so war es von Interesse zu erfahren, wie sich ein anderer Pilz zu dieser Frage verhält.

Es wurde dann, wie bei Boas, Succinamid und Succinimid zu diesem Vergleich verwendet, von denen je 1/20 Mol in dieselbe Grundnährlösung wie beim vorhergehenden Versuch kam. Am 1. Mai 1931 wurde geimpft. In folgender Tabelle ist das Ergebnis des Versuches zusammengestellt:

	Succinamid	Succinimid
1. Mai 1931 pH	6,5	5,8
7. Mai 1931 pH	6,2	5,4
Erntegewicht in g . .	0,086	0,125
12. Mai 1931 pH	5,3	5,9
Erntegewicht in g . .	0,140	0,200

Schon nach drei Tagen sah man, daß das Wachstum auf Succinimid bedeutend stärker war als Succinamid und die Farbe des Myzels war auf diesem heller grün als auf Succinimid. Das Wachstum auf Succinimid erinnert durchaus an das auf Ammoniumsalzen und auch in seinem Nährwert für Cladosporium nähert es sich denselben (siehe Tabelle), ähnlich wie Boas bei Hefe gefunden hat.

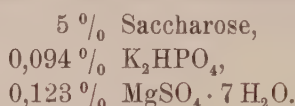
Elektion der Nährstoffe.

Eine der wichtigsten Fragen der Physiologie ist die Erscheinung des „Wahlvermögens“. Ist die Pflanze in der Lage, ihre Nährstoffe auszuwählen oder muß sie einfach zwangsläufig auf Grund physikalisch-chemischer Verhältnisse in der Zelle die vorhandenen Nährstoffe aufnehmen?

Diese Frage verdient von allen Seiten her bearbeitet zu werden und sie drängt sich bei der Betrachtung der bis hierher beschriebenen Versuche geradezu auf. Es wurde doch festgestellt, daß Cladosporium bei Verwendung von Ammoniumsalzen der starken Mineralsäuren als Stickstoffquellen sehr rasch eintretende Säureschäden erleidet, also eine Art Mangel an Regulationsvermögen zeigt. Dagegen wächst es auf manchen organischen Stickstoffquellen (z. B. Asparagin) fast ebenso gut und hat infolge der geringeren H-Ionen-Bildung eine viel längere Lebensmöglichkeit. Nach teleologischen Gesichtspunkten müßte nun der Pilz, wenn ihm gleichzeitig gleichwertige anorganische und organische Stickstoffquellen zur Verfügung stehen, die organischen bevorzugen, die ihm viel weniger gefährlich werden können.

Auf die weiteren Einzelheiten dieser Frage will ich nicht eingehen, da sie erst in der Arbeit von Rippel (41), die ebenfalls aus dem Münchener Institut hervorging, behandelt wurde. Um aber für theoretische Gedankengänge eine breitere Grundlage zu erhalten, müssen noch andere Pilze untersucht werden. Daher untersuchte ich die Frage an dem so weit verbreiteten Cladosporium.

Zunächst wurde ein Versuch mit bernsteinsaurem Ammonium und Ammoniumsulfat angesetzt. Als Grundnährlösung diente



5 °/₀ Saccharose,
0,094 °/₀ K_2HPO_4,
0,123 °/₀ $MgSO_4 \cdot 7\,H_2O$.

Dazu kam in der ersten Versuchsreihe 1/20 Mol bernsteinsaures Ammonium, in der zweiten Reihe 1/20 Mol Ammoniumsulfat und in der dritten Reihe 1/20 Mol bernsteinsaures Ammonium + 1/20 Mol Ammoniumsulfat. Am 4. März 1931 wurde geimpft. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

		Bernsteins. Ammonium 1/20 Mol	Ammoniumsulfat 1/20 Mol	Bernsteins. Ammonium + Ammoniumsulfat je 1/20 Mol
4. März 1931	pH	5,5	6,9	5,3
11. März 1931	pH	5,4	3,0	5,1
Erntegewicht in g	.	0,111	0,123	0,143
14. März 1931	pH	5,4	2,75	4,95
Erntegewicht in g	.	0,172	0,185	0,211
17. März 1931	pH	5,5	2,6	4,8
Erntegewicht in g	.	0,233	0,240	0,254

Nach fünf Tagen war das Wachstum überall gleich, nur in der Reihe mit Ammoniumsulfat war die grüne Farbe etwas blasser. Nach weiteren vier Tagen war die Farbe dann in allen drei Reihen gleichmäßig grün.

Bei einer vergleichenden Betrachtung der W.I.K. in den verschiedenen Reihen zeigt sich, daß in der Reihe mit Ammoniumsulfat und bernsteinsaurem Ammonium das Ansteigen der W.I.K. etwa die Mitte der Steigerungen der bernsteinsauren Ammoniumreihe und der Ammoniumsulfatreihe einnimmt. Es werden also offensichtlich bei Gegenwart der zwei Ammoniumsalze beide in den Stoffwechsel gerissen, was bei geeigneter Versuchsanordnung zu Säureschäden durch die starke Mineralsäure führen kann.

Als weitere organische Stickstoffquelle wurde Glykokoll, eine Aminosäure untersucht. Daß Aminosäuren sehr gute Stickstoffquellen sind, haben schon Czapek (18), Brenner (14) und andere nachgewiesen. Unsere Fragestellung ist aber so verschieden von der anderer Autoren, daß ich hier auf deren Arbeiten nicht einzugehen brauche. Während dort die Aminosäuren nur mit anderen Stickstoffquellen verglichen werden, will ich die Aminosäure Glykokoll nicht nur mit Ammoniumsulfat vergleichen, sondern auch mit der Mischung Glykokoll-Ammoniumsulfat. Wir befinden

uns ja bei der Frage der Elektion, die schon im vorhergehenden Versuch angeschnitten wurde.

Als Grundnährlösung diente:

5 % Maltose,
0,174 % K_2HPO_4,
0,123 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.

Dazu kam in drei Reihen einmal 1/20 Mol Glykokoll, dann 1/20 Mol Ammoniumsulfat und in die dritte Reihe je 1/20 Mol Glykokoll und Ammoniumsulfat.

Das Versuchsergebnis ist in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

		1/20 Mol Ammoniumsulfat	1/20 Mol Glykokoll	Je 1/20 Mol Ammoniumsulfat + Glykokoll
16. Januar 1931	pH	6,5	6,75	6,3
23. Januar 1931	pH	5,5	6,3	5,9
Erntegewicht in g	.	0,105	0,066	0,144
26. Januar 1931	pH	3,6	5,9	5,4
Erntegewicht in g	.	0,176	0,120	0,190
29. Januar 1931	pH	2,7	5,5	5,5
Erntegewicht in g	.	0,280	0,200	0,251

Schon beim Vergleichen der W.I.K. in den einzelnen Reihen sieht man, daß in den Reihen mit Glykokoll und Glykokoll-Ammoniumsulfat das Ansteigen der W.I.K. den Anschein erweckt, als ob nur Glykokoll in der Nährlösung vorhanden wäre. Am Anfang des Wachstums könnte etwas Ammoniumsulfat verbraucht worden sein, aber im weiteren Wachstumsverlauf scheint der Einfluß des Ammoniumsulfats stark zurückgedrängt worden zu sein. Jedenfalls ist auffällig, daß hier das Ammoniumsulfat effektiv hinter die Aminosäure zurücktritt. (Bei Rippel [41] mit anderen Bedingungen anders).

Bei anderen Versuchen von mir, siehe S. 304 und 307, wurde mit anderen Kohlenstoffquellen das gegenteilige Ergebnis erzielt. Es scheint, als ob die vorhandene Kohlenstoffquelle mitentscheidet, ob Aminosäure oder Ammonium verbraucht wird.

Damit wäre vermutlich ein wichtiger Einblick in den Chemismus und Mechanismus bei der Elektion gewonnen. Spätere Untersuchungen werden zeigen müssen, inwieweit dies allgemein zutrifft.

Man könnte nun gegen diese Folgerungen aus der Veränderung der W.I.K. Einwände folgender Art erheben:

Es könnte möglich sein, daß der Pilz infolge der Anwesenheit von Glykokoll in der Glykokoll-Ammoniumsulfat-Reihe Amino-Acidasen abscheidet. Hierdurch würde wohl aus dem Glykokoll die Base frei werden und die etwa noch entstehende Essigsäure könnte verbrannt werden. Wenn aber nun der Pilz doch den Stickstoff aus dem Ammoniumsulfat assimilieren würde, so könnte die hierdurch freiwerdende Schwefelsäure

durch die aus der Aminosäure freigemachte Base sofort wieder neutralisiert werden, so daß man aus einer Veränderung der W.I.K. falsche Schlüsse ziehen würde.

Um nun einen weiteren Beweis dafür zu haben, daß in der Reihe Glykokoll-Ammoniumsulfat vorwiegend Glykokoll verarbeitet wurde, wie oben aus dem Ansteigen der W.I.K. durch Vergleich mit der Versuchsreihe, die nur Glykokoll enthielt, geschlossen wurde, habe ich in der am 29. Januar 1931 abgeernteten Nährlösung eine Stickstoffbestimmung vorgenommen. In der Glykokoll-Ammoniumsulfat-Reihe wurde der Ammonium- und der Amidstickstoff bestimmt: Von dem

Ammoniumstickstoff waren 0,002 g N verbraucht, von dem
Amidstickstoff „ 0,0056 g N „ , also

zusammen: 0,0076 g N.

Dies wäre der Stickstoffgehalt von 250 g Trockenmyzel. Umgerechnet ergibt dies einen Stickstoffgehalt des auf Glykokoll-Ammoniumsulfat geernteten Trockenmyzels von 3 %, was einem Eiweißgehalt von 18,75 % entspricht. Diese Zahlen liegen durchaus in dem Bereiche der bei Pilzen vorkommenden Eiweißmenge. Bekanntlich schwankt ja der Eiweißgehalt der Pilze stark. So gibt z. B. Henneberg (22) für Hefe einen Eiweißgehalt von 33 % bis 65 %, Sieber (48) für Penicillium einen Eiweißgehalt von 29,88 %, Aso (2) für *Aspergillus oryzae* einen Eiweißgehalt von 39,875 % an. Cladosporium hat also einen sehr geringen Eiweißgehalt, in einem andern Fall (siehe S. 306) wurden 5,6 % bestimmt.

Was nun die Frage nach der Wertung von Glykokoll im Vergleich mit Ammoniumsulfat als Stickstoffquelle betrifft, so scheint zweifellos Ammoniumsulfat besser zu sein. Zur Vergleichung stelle ich die erzielten Erntegewichte vom 29. Januar 1931 zusammen und dazu die von den Erntegewichten freigemachten H-Ionen (siehe Abb. 14).

	1/20 Mol Ammoniumsulfat	1/20 Mol Glykokoll	Je 1/20 Mol Ammoniumsulfat + Glykokoll
Erntegewicht am 29. Januar 1921 .	280 mg	200 mg	250 mg
Bis zum 29. Januar 1931 freigewordene H-Ionen	$900 \cdot 10^{-8}$	$9 \cdot 10^{-8}$	$8 \cdot 10^{-8}$

In der Glykokoll-Ammoniumsulfat-Reihe scheint es, als ob die Anwesenheit der SO_4-Ionen einen fördernden Einfluß auf das Wachstum gehabt hätten, denn es ist kaum anzunehmen, daß die geringe Menge des nicht verbrauchten Ammoniumsulfat-Stickstoffes allein zu dieser Erntesteigerung ausgereicht hätte.

Welche Vorgänge hier eine Rolle spielen, daß in der Mischung von Glykokoll-Ammoniumsulfat offensichtlich Glykokoll viel stärker verarbeitet wird, ist unklar. In anderen Fällen und bei anderen Pilzen wird neben

organischen Stickstoffquellen Ammoniumsulfat stark in den Stoffwechsel gerissen, so z. B. bei Verwendung von *Aspergillus niger*, wo in einer Hefewasserzuckerlösung mit Ammoniumchlorid so starke Säuerung eintritt, daß es sogar zur Bildung löslicher Stärke kommt, wie Boas (11) ausführlich betont. Wie der nächste Versuch zeigt, spielen in einer Mischung von Ammoniumsulfat und Aminosäure folgende zwei Gesichtspunkte eine Rolle:

1. Die Art der Kohlenstoffquelle;
2. das gegenseitige Mengenverhältnis der Stickstoffquellen.

Vielleicht tritt auch eine Bindung von Aminosäure mit Zucker ein (Neuberg und Kobel 37), so daß eben dadurch Glykokoll mehr zur

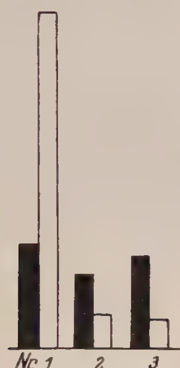


Abb. 14.

Zusammenstellung der Erntegewichte (schwarz) vom 29. Januar 1931 des Maltose-Glykokoll-Ammoniumsulfat-Versuches mit bis dahin freigewordenen H-Ionen (umrandet).

Nr. 1 = Reihe mit Ammoniumsulfat,
Nr. 2 = „ „ Glykokoll,
Nr. 3 = „ „ Ammoniumsulfat + Glykokoll.

Geltung kommen könnte. Das höhere Erntegewicht der Glykokoll-Ammoniumsulfat-Reihe ist dann die Folge der SO_4-Ionen-Wirkung, also physikalisch-chemisch, vielleicht durch Adsorptionsverschiebung in die Zelle hinein, bedingt, wie Boas (8) in verschiedenen Arbeiten zu begründen versuchte. Die Bindung von Glykokoll an Zucker ist chemisch gesichert, ich verweise auf die Arbeit von Neuberg und Kobel (37).

Der nächste Versuch zeigt nun, daß mit Änderung der Kohlenstoffquelle tatsächlich ein anderer Stickstoffverbrauch eintritt, Ammoniumsulfat wird deutlich in den Stoffwechsel gerissen.

Es wurde nun der vorhergehende Versuch mit einer anderen Kohlenstoffquelle, nämlich mit Saccharose, unter sonst gleichbleibenden Bedingungen wiederholt. Der Gehalt der Nährlösung an Ammoniumsulfat wurde in weiteren Reihen gesteigert, um zu sehen, ob das gegenseitige Mengenverhältnis von Glykokoll und Ammoniumsulfat den Verbrauch der einen oder anderen Stickstoffquelle beeinflußt oder reguliert.

Der Versuch wurde in 100 ccm Erlenmeyerkolben mit je 50 ccm Nährlösung angesetzt. Der Gehalt der einzelnen Reihen an Glykokoll und Ammoniumsulfat ist aus der Tabelle zu ersehen, ebenso das Ergebnis des Versuches. Die Impfung erfolgte am 30. Januar 1931.

	1/40 Mol Glykokoll	1/40 Mol Ammonsulfat	1/5 Mol Ammonsulfat	1/40 Mol Glykokoll + 1/15 Mol Ammonsulfat	1/40 Mol Glykokoll + 1/20 Mol Ammonsulfat	1/40 Mol Glykokoll + 1/15 Mol Ammonsulfat	1/40 Mol Glykokoll + 1/10 Mol Ammonsulfat	1 40 Mol Glykokoll + 1/5 Mol Ammonsulfat
30. Januar 1931 pH	7,1	7,0	6,5	7,0	6,8	6,75	6,6	6,6
7. Februar 1931 pH	6,0	3,8	3,7	4,7	4,9	4,5	4,9	4,3
Erntegewicht in g	0,121	0,150	0,144	0,150	0,145	0,163	0,087	0,151
11. Februar 1931 pH	6,5	3,0	3,2	3,6	3,7	3,8	3,6	3,6
Erntegewicht in g	0,171	0,240	0,242	0,278	0,244	0,275	0,235	0,280
14. Februar 1931 pH	5,5	2,65	2,65	3,45	3,4	—	3,75	3,25
Erntegewicht in g	0,184	0,295	0,407	0,366	0,275	—	0,232	0,437
19. Februar 1931 pH	5,3	2,0	2,25	2,65	3,1	3,1	3.25	3,0
Erntegewicht in g	0,290	0,505	0,658	0,586	0,520	0,500	0,460	0,674

Nach sieben Tagen bot der Versuch folgendes Bild:

Reihe mit 1/40 Mol Glykokoll:	Ebene Decke mit tiefgrünen Stellen.
„ „ 1/40 „ Ammonsulfat:	Hellgrüne ebene Decke.
„ „ 1/5 „ „	Decke zu 2/3 aus zusammenhängenden blaßgrünen Inseln gebildet.
„ „ je 1/40 „ „	+ Glykokoll: Tiefgrüne, ebene Decke wie bei Glykokoll.
„ „ 1/20 „ „	+ 1/40 Mol Glykokoll: Grüne, ebene Decke.
„ „ 1/15 „ „	+ 1/40 Mol Glykokoll: Hellgrüne Decke aus zusammenhängenden blaßgrünen gewölbten Inseln.
„ „ 1/10 „ „	+ 1/40 Mol Glykokoll: Wachstum schwach, blaßgrüne gewölbte Inseln.
„ „ 1/5 „ „	+ 1/40 Mol Glykokoll: Wachstum etwas stärker, Inselchen stärker gewölbt, blaßgrün.

Aus dieser Übersicht geht hervor, daß die Wölbung des Myzels bei höherer Salzkonzentration beginnt und proportional mit dieser zunimmt, was ich schon früher angegeben habe.

Ferner übt auch die Art der gebotenen Stickstoffquelle einen Einfluß auf die Bildung des grünen Farbstoffes aus. In der Reihe mit Glykokoll ist die Farbe des Myzels tiefgrün, in der Reihe mit der gleichen Menge Ammoniumsulfat ist die Farbe hellgrün. Parallel mit der Steigerung der Ammoniumsulfatmengen geht ein Hellerwerden der Farbe bis blaßgrün, das Ammonsulfat scheint das Glykokoll zu überlagern, wie auch die Änderung der W.I.K. zeigt.

Wenn man nun, um zur Kernfrage des Versuches zurückzukommen, die W.I.K.-Veränderungen der Reihen mit 1/40 Mol Glykokoll, 1/40 Mol Ammoniumsulfat und der Reihe mit je 1/40 Mol Glykokoll und 1/40 Mol Ammoniumsulfat miteinander vergleicht, so sieht man mit der beim vorhergehenden Versuche gesammelten Erfahrung sofort, daß in der Reihe mit Glykokoll-Ammoniumsulfat Ammoniumsulfat stark mit in den Stoffwechsel gerissen wurde, wobei aber auch Glykokoll assimiliert wurde. Dies glaube ich außer aus der W.I.K. auch aus der Farbe des Myzels im Vergleich mit der Farbe des auf reinem Glykokoll gewachsenen Myzels schließen zu dürfen.

Ich stelle nun auch hier wieder der besseren Übersicht wegen die Erntegewichte vom 19. Februar 1931 und die Menge der bis dahin freigewordenen H-Ionen zusammen. (Siehe Abb. 15.)

	1/40 Mol Glykokoll	1/40 Mol Ammonsulfat	1/5 Mol Ammonsulfat	1/40 Mol Glykokoll + 1/40 Mol Ammonsulfat	1/40 Mol Glykokoll + 1/20 Mol Ammonsulfat	1/40 Mol Glykokoll + 1/15 Mol Ammonsulfat	1/40 Mol Glykokoll + 1/10 Mol Ammonsulfat	1/40 Mol Glykokoll + 1/5 Mol Ammonsulfat
Erntegewicht in mg	290	505	658	586	520	500	460	274
H-Ionen in g . .	0,05	300 $\cdot 10^{-6}$	168 $\cdot 10^{-6}$	60 $\cdot 10^{-6}$	24 $\cdot 10^{-6}$	24 $\cdot 10^{-6}$	16,8 $\cdot 10^{-6}$	30 $\cdot 10^{-6}$

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß, um ein Erntegewicht von 500 bis 600 mg zu erreichen die freiwerdende H-Ionen-Menge von $16{,}10^{-6}$ bis $300{,}10^{-6}$ schwanken kann, d. h. um den rund zwanzigfachen Betrag.

Auffallend ist ferner das gleichmäßige Absinken des Erntegewichtes von der Reihe mit 1/5 Mol Ammoniumsulfat bis zu der Reihe mit 1/10 Mol Ammoniumsulfat + 1/40 Mol Glykokoll und das damit parallel gehende Absinken der Menge der freiwerdenden H-Ionen. Sicher ist diese Erscheinung auf die Anwesenheit des Glykokolls zurückzuführen. Denn in der Reihe mit 1/5 Mol Ammoniumsulfat werden bei einem Erntegewicht von 658 mg $168{,}10^{-6}$ g H-Ionen frei, während in der Reihe mit 1/5 Mol Ammoniumsulfat + 1/40 Mol Glykokoll bei einem Erntegewicht von 674 mg nur $30{,}10^{-6}$ g H-Ionen frei werden, also nur rund 1/5. Die wesentliche Steigerung der W.I.K. (vgl. Nr. 1 und 8) deutet aber darauf hin, daß Ammoniumsulfat verarbeitet wird.

Zur Sicherstellung des Versuchsergebnisses, daß sich der Pilz auf Saccharose in der „Auswahl" der Stickstoffquelle anders verhält als auf Maltose, wurden wieder Stickstoffbestimmungen durchgeführt, einmal in der Reihe mit 1/40 Mol Ammoniumsulfat, das andere Mal in der Reihe mit 1/40 Mol Ammoniumsulfat + 1/40 Mol Glykokoll. In der ersteren waren 0,0056 g N verbraucht, in der letzteren waren 0,0045 g N aus dem Ammoniumsulfat und 0,0014 g N aus dem Glykokoll verbraucht. Für beide Reihen ergibt sich umgerechnet auf die entsprechenden Erntegewichte

ein Stickstoffgehalt der Myzelien von 0,9 % Stickstoff, was einem Eiweißgehalt von 5,6 % entspricht.

Hiermit ist nun auch rechnerisch bewiesen, daß der Stickstoffwechsel bei Verwendung von Saccharose als Kohlenstoffquelle tatsächlich ein anderer ist als bei der Verwendung von Maltose. In diesem mit Saccharose-Glykokoll-Ammoniumsulfat durchgeführten Versuch wurde vorwiegend Ammoniumsulfatstickstoff assimiliert, während im vorhergehenden Versuche bei Verwendung von Maltose-Glykokoll-Ammoniumsulfat vorwiegend Glykokoll in den Stoffwechsel gerissen wurde.

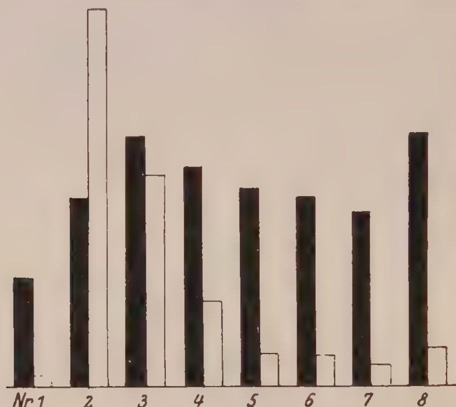


Abb. 15.

Zusammenstellung der Erntegewichte (schwarz) vom 19. Februar 1931 des Saccharose-Glykokoll-Ammoniumsulfat-Versuches mit den bis dahin freigewordenen H-Ionen (umrandet).

Nr. 1	Reihe	mit	1/40	Mol	Glykokoll		
„ 2	„	„	1/40	„	Ammoniumsulfat		
„ 3	„	„	1/5	„	„		
„ 4	„	„	1/40	„	Glykokoll	+ 1/40 Mol	Ammoniumsulfat
„ 5	„	„	1/40	„	„	+ 1/20 „	„
„ 6	„	„	1/40	„	„	+ 1 15 „	„
„ 7	„	„	1/40	„	„	+ 1/10 „	„
„ 8	„	„	1/40	„	„	+ 1/5 „	„

Der Anschaulichkeit halber wurde die H-Ionenmenge bei Nr. 1 in der Darstellung in 100 fach vergrößertem Maßstabe wiedergegeben.

Nach den Verschiedenheiten der Ergebnisse der beiden vorhergehenden Versuche mit verschiedenen Kohlenstoffquellen wurde nun die Aminosäure geändert und statt Glykokoll Alanin als Stickstoffquelle verwendet. Der Versuch wurde in zwei Abteilungen durchgeführt, einmal mit Saccharose als Kohlenstoffquelle, das andere Mal mit Maltose. Das verwendete Alanin war von Kahlbaum A.G. Berlin.

Als Nährlösung diente:

5,0 % Saccharose und Maltose
0,094 % K_2HPO_4
0,123 % $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.

Dazu kam dann 0,05 Mol Alanin in die eine Reihe; in eine zweite Reihe 0,05 Mol Ammoniumsulfat und in eine dritte Reihe 0,05 Mol Alanin + 0,05 Mol Ammoniumsulfat. Geimpft wurde am 3. März 1931. Die Ergebnisse des Versuches sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

	Saccharose			Maltose		
	Alanin 0,05 Mol	Ammonsulfat 0,05 Mol	je 0,05 Mol Alanin + Ammonsulfat	Alanin 0,05 Mol	Ammonsulfat 0,05 Mol	je 0,05 Mol Alanin + Ammonsulfat
3. März 1931 pH	7,0	6,9	7,0	7,2	6,9	6,9
10. März 1931 pH	6,1	3,2	3,7	5,9	2,1	3,0
Erntegewicht in g	0,172	0,167	0,206	0,185	0,420	0,405
13. März 1931 pH	5,8	2,7	3,5	5,8	1,95	2,9
Erntegewicht in g	0,183	0,182	0,225	0,328	0,557	0,422
17. März 1931 pH	6,7	2,2	3,7	5,2	1,9	2,4
Erntegewicht in g	0,280	0,308	0,300	0,397	0,574	0,573

Bei einer Betrachtung des Versuches nach drei Tagen erhielt man folgendes Bild:

Reihe mit Saccharose-Alanin bzw. mit Saccharose-Alanin-Ammonsulfat: Wachstum gleich, Oberfläche mit stecknadelknopfgroßen Inseln bedeckt.

„ „ Saccharose-Ammoniumsulfat: Wachstum schwach.

„ „ Maltose-Alanin bzw. Maltose-Alanin-Ammoniumsulfat: Wachstum noch schwächer als auf Saccharose-Ammonsulfat.

„ „ Maltose-Ammoniumsulfat: stärkstes Wachstum.

Die Farbe der Kulturen auf Saccharose war durchweg blasser als der auf Maltose gewachsenen. Es scheint, daß nicht nur, wie im vorhergehenden Versuch vermutet, die Stickstoffquelle von Einfluß auf die Farbstoffbildung ist, sondern auch die Kohlenstoffquelle.

Zur leichteren Beurteilung des Versuches rechne ich nun die pH-Zahlen der Tabelle wieder in die gebildete Wasserstoffionenmenge um (siehe Abb. 16).

	Saccharose			Maltose		
	Alanin	Ammonsulfat	je 0,05 Mol Alanin + Ammonsulfat	Alanin	Ammonsulfat	je 0,05 Mol Alanin + Ammonsulfat
Erntegewicht in mg	280	308	300	397	574	573
H-Ionen in g . .	—	190 $\cdot 10^{-6}$	6 $\cdot 10^{-6}$	0,19 $\cdot 10^{-6}$	360 $\cdot 10^{-6}$	120 $\cdot 10^{-6}$

Bei dieser Darstellung fällt zuerst das viel stärkere Wachstum des Pilzes auf Maltose als auf Saccharose auf, was schon früher in dem Versuche über Kohlenstoffquellen festgestellt wurde.

Beim Vergleich der Reihen Saccharose-Alanin-Ammoniumsulfat und Maltose-Alanin-Ammoniumsulfat ergibt sich als Verhältnis der Ernte-

gewichte etwa 1:2, als Verhältnis der freigewordenen H-Ionen etwa 1:20. In der Saccharose-Reihe ist also wohl kaum Ammoniumsulfat verarbeitet worden, sondern vorzüglich Alanin, während in der Maltose-Reihe sehr viel Ammoniumsulfatstickstoff mitverarbeitet zu sein scheint. Da sich diese beiden Reihen nur durch die Kohlenstoffquellen unterscheiden, so dürfte das ein weiterer Hinweis darauf sein, daß die Aufnahme bestimmter N-Verbindungen bei Cladosporium deutlich von der Kohlenstoffquelle beeinflußt wird.

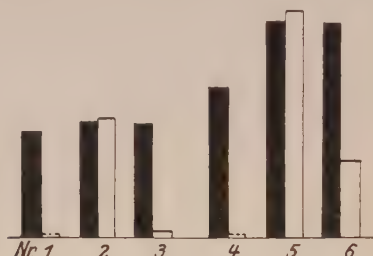


Abb. 16.

Zusammenstellung der Erntegewichte (schwarz) vom 17. März 1931 des Saccharose-Alanin-Ammoniumsulfat- und Maltose-Alanin-Ammoniumsulfat-Versuches mit den bis dahin freigewordenen H-Ionen (umrandet).

Nr. 1. Saccharose-Alanin-Reihe
„ 2. Saccharose-Ammoniumsulfat-Reihe
„ 3. Saccharose-Ammoniumsulfat-Alanin-Reihe
„ 4. Maltose-Alanin-Reihe
„ 5. Maltose-Ammoniumsulfat-Reihe
„ 6. Maltose-Ammoniumfulfat-Alanin-Reihe.

NB. Bei Nr. 1 und Nr. 4 wurde die Menge der freigewordenen H-Ionen größer gezeichnet, um sie noch zur Darstellung bringen zu können.

Ich will nun die Ergebnisse der 3 letzten Versuche über die Elektion der Nährlösung zusammengefaßt wiedergeben: Bei Verwendung von

Maltose-Glykokoll-Ammoniumsulfat wurde vorwiegend Glykokoll verarbeitet,

Saccharose-Glykokoll-Ammoniumsulfat wurde deutlich Ammonsulfat verarbeitet,

Maltose-Alanin-Ammoniumsulfat wurde deutlich Ammonsulfat verarbeitet,

Saccharose-Alanin-Aluminiumsulfat wurde deutlich Alanin verarbeitet.

Cladosporium stellt also einen ganz anderen Pilztypus dar, als der so häufig untersuchte *Aspergillus niger*.

Es ist selbstverständlich, daß durch die wenigen Versuche, die wir im Rahmen dieser Arbeit zu machen möglich waren, die Frage nach dem Wahlvermögen nicht restlos geklärt werden konnte. Es soll dies nur

ein Hinweis sein auf einen Weg, auf dem man durch weitere Versuche zu einer Klärung der Frage kommen könnte.

In der am 10. März 1931 abgeernteten stark sauren Nährlösung wurde vergebens auf lösliche Stärke geprüft. Dagegen konnte in der stärkefreien Nährlösung Diastase nachgewiesen werden und zwar nach folgender Methode: 5 ccm der Nährlösung wurden in einem Reagensglas mit 1 ccm einer 0,1 % Stärkelösung versetzt. Dazu kamen zwei Tropfen einer stark verdünnten Jod-Jodkali-Lösung, wodurch eine intensive Blaufärbung eintrat. Dann wurde noch 1/2 ccm Toluol zugesetzt, um ein Wachstum zu verhindern. Nach zwei Tagen war die Blaufärbung größtenteils verschwunden. Je nach der Zusammensetzung der Nährlösung zeigten sich verschiedene Stufen der Entfärbung, die ich hier zusammenstellen will:

Maltose-Alanin	total entfärbt
Saccharose-Alanin	total entfärbt
Maltose-Alanin-Ammonsulfat .	fast entfärbt
Saccharose „ „	fast entfärbt
Maltose-Ammonsulfat	kaum noch blau
Saccharose-Ammonsulfat . . .	noch etwas blau.

Durch Gegenwart von Alanin scheint also die Diastase-Bildung besonders gefördert zu werden.

Auf diesen Nebenbefund will ich nicht weiter eingehen, die Frage der Enzymbildung und -Regulation kann ja bei Kylin (31), Oppenheimer (38) und anderen nachgelesen werden.

Zur Zytologie.

Nach den verschiedenen ernährungsphysiologischen Untersuchungen war es von Interesse, auch einen Einblick in die Zelle des Pilzes zu tun in Hinsicht auf die Verarbeitung der verschiedenen Nährstoffe.

Zu diesem Zwecke wurde die Volutinbildung in folgenden verschiedenen Nährlösungen untersucht, von denen sich die synthetischen nur durch die Kohlenstoffquelle oder die Stickstoffquelle unterschieden.

1. Maltose-Ammonsulfat,
2. Maltose-Alanin,
3. Saccharose-Alanin,
4. Dextrose-Ammoniumchlorid,
5. Dextrose-Kaliumnitrat,
6. Würze (ungehopft), 10 %ige,
7. Hefewasser + 5 % Rohrzucker.

Sämtliche Nährlösungen wurden gleichzeitig geimpft und nach 3, nach 5, nach 8, nach 10 und nach 15 Tagen wurden Myzelproben entnommen und gefärbt.

Zwischen den einzelnen Myzelien aus den einzelnen Nährböden ließen sich deutliche Unterschiede feststellen, sowohl in bezug auf den Volutin-

Gehalt, als auch in bezug auf die Anordnung des Volutins in den Zellen. Die Resultate der Untersuchungen gebe ich zusammengefaßt wieder:

1. Die Volutinbildung ist bei Cladosporium proportional der Eignung einer Nährlösung, d. h. je schneller und besser der Pilz auf einer Nährlösung wächst, desto mehr Volutin wird gebildet. Maltose-Ammoniumsulfat, das aus den vorhergehenden Versuchen als sehr gute Nährlösung bekannt ist, führt zu starker Volutinbildung. Das Volutin, das hier zu Klumpen zusammengeballt oft ganze Zellen ausfüllt, findet sich in jeder, auch in der jüngsten Zelle. Im Gegensatz hierzu steht die Volutinbildung auf Dextrose-Kaliumnitrat, welches für Cladosporium eine weniger gute Nährlösung ist. Hier wird nur sehr wenig feinkörniges Volutin gebildet.

2. Die Ausbildungsform des Volutins hängt von der Wachstumsgeschwindigkeit auf der Nährlösung ab. Ist das Wachstum langsamer, so wird das Volutin in kleineren Körnern ausgebildet und ist in den Hyphen reihenförmig angeordnet. Als Beispiel möge das Wachstum auf Würze dienen, die ja für Cladosporium eine recht gute Nährstoffquelle darstellt. Es wird hier weniger Volutin gebildet als auf Maltose-Ammoniumsulfat, in den ganz jungen Hyphen war noch gar keines nachzuweisen. Die Volutinkörner waren ganz gleichmäßig in Reihen angeordnet.

3. Die Volutinbildung läßt mit dem Altern der Zelle nach bzw. hört überhaupt auf. Dasselbe tritt auch ein bei einer Hemmung des Wachstums durch Säuerung der Lösung. Im Maltose-Ammoniumsulfat war nach 10 Tagen nur noch in ganz jungen Hyphen wenig Volutin nachzuweisen, nach 15 Tagen war das Myzel tot und gab keine Volutinfärbung mehr. In Dextrose-Kaliumnitrat nahm der allerdings geringe Volutingehalt etwas zu, aber bereits 10 Tage nach der Impfung war überhaupt kein Volutin mehr nachzuweisen.

Bei den Prüfungen auf Volutin wurden auch Kernfärbemethoden probiert. Nach zahlreichen vergeblichen Versuchen mit verschiedenen Kernfärbemethoden gelang es mit der von Kattermann abgeänderten Heitzschen Methode, nach einer Vorprobe Kattermanns, eine Kernfärbung zu bekommen.

Da dies nicht ohne Interesse ist, sei dieser Nebenbefund noch kurz angeführt.

Zusammenfassung.

1. In der Gegend pH 4 und in der Gegend von pH 6 scheint Cladosporium je einen I.EP. zu haben.

2. Der Pilz bildet bei normalem Stoffwechsel keine Säure von nennenswerter Dissoziation und unterscheidet sich dadurch scharf von vielen anderen Pilzen.

3. Verschiedene anorganische Neutralsalze in Konzentrationen von 1/20 Mol bis 4/25 Mol haben keinen direkt sichtbaren, wesentlichen Einfluß auf das Wachstum des Pilzes.

4. Bei geeignet hohen Säuregraden, nämlich bei Wasserstoffionenkonzentrationen von $7{,}9 \cdot 10^{-3}$ bis $5 \cdot 10^{-3}$, entsteht lösliche Stärke.

5. Der Pilz kann submers fertil wachsen. Hierbei verhält er sich einigermaßen anaerob,

a) wenn Glyzerin als Kohlenstoffquelle vorhanden ist (s. Seite 32),

b) in stark salzhaltiger Nährlösung unter dem Einfluß der gebrauchten Nährlösung oder unter dem gleichzeitigen Einfluß beider Faktoren (s. Seite 42).

6. Anorganische Ammoniumsalze bilden die besten Stickstoffquellen, wobei aber starke Säureschäden auftreten, dann folgen Aminosäuren. Nitrat wird sehr langsam verarbeitet.

7. Ob man bei dem Pilz von einem Wahlvermögen sprechen kann, erscheint mir fraglich. Bei Verwendung von Maltose-Glykokoll-Ammoniumsulfat verzehrt er vorwiegend Glykokoll, bei Verwendung von Saccharose-Glykokoll-Ammoniumsulfat verzehrt er vorwiegend Ammoniumsulfat. Hier scheint die Kohlenstoffquelle den Ausschlag zu geben. Da aber bei jeder Änderung einer Komponenten der Nährlösung für den Pilz andere chemisch-physikalische Bedingungen geschaffen werden, so erscheint es statt der Annahme eines Wahlvermögens viel richtiger, daß eben diese Änderungen der chemisch-physikalischen Bedingungen den Ausschlag für die Aufnahme der einen oder der anderen Stickstoffquelle für den Pilz gibt.

Vorstehende Arbeit wurde im Botanischen Institut der Technischen Hochschule München ausgeführt.

Die Anregung hierzu verdanke ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Boas, dem Vorstand des Instituts. Die zahlreichen Hilfsmittel des Instituts kamen der Durchführung der Arbeit sehr zugute. Herrn Professor Dr. Boas möchte ich für die ständige Unterstützung der Arbeit meinen ergebensten Dank aussprechen. Ferner danke ich Herrn Privatdozent Dr. Gistl für sein reges Interesse und ebenso Herrn Professor Dr. Dunzinger für die Ausführung der Zeichnungen.

Literaturverzeichnis.

1 Adametz: zit. nach Weigmann in Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 2, S. 232.

2 Aso: zit. nach Czapek, Biochemie der Pflanzen, Jena 1925, Bd. 2, S. 127.

3 Barnes: Annal. of Bot. 1930, Bd. 44, S. 825.

4 Beneke: Bot. Zeitung 1896, Jahrg. 54, S. 97.

5 Berlese und Guéguen: zit. nach Lafar, Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 4, S. 274.

6 Blom: Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 1926, Bd. 59, S. 121 und Biochem. Zeitschr. 1928, Bd. 194, S. 385.

7 Boas: Annal. Mycol. Vol. 16, Nr. 3—6, 1918.

8 Boas: Die Pflanze als kolloides System. München-Freising 1928.

9 Boas: Botan. Zentralbl. 1919, Bd. 34.

10 Boas: Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1919, Bd. 37, Heft 1.

11 Boas: Beihefte zum Bot. Zentralbl. 1919, Bd. 36, Abteilung 1.

12 Boas: Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1916, Bd. 34, Heft 9.

14 Brenner: Die Stickstoffnahrung der Schimmelpilze. Rudolstadt i. Thür., 1914.

15 Bruhne: Zopfs Beiträge, 1894, Heft 4.

16 Busch: Ber. d. Deutsch. Chem. Ges. 1905, Bd. 38, S. 861.

17 Czapek: Biochemie der Pflanzen. Jena 1925.

18 Czapek: Hofmeisters Beiträge. Bd. 2, 1902.

Eigner: s. Klein.

19 Fröhlich: Jahrb. Wiss. Bot. 1907, Bd. 44, S. 353, Bd. 45, S. 256.

20 Hasper, Biologie und Bekämpfung von *Cladosporium fulvum* auf *Solanum lycopersicum*. Dissertation. Frankfurt 1922.

21 Henneberg: Zentralbl. f. Bakteriologie, Abt. II, 1916, Bd. 45. S. 50.

22 Henneberg: zit. nach Czapek, Biochemie der Pflanzen, Jena 1925, Bd. 2, S. 123.

23 Hoeber: Physik. Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig und Berlin, 1914.

24 Janczewski: Anzeig. d. Akad. d. Wissenschaft. Krakau 1894, S. 187.

25 Kaho: Biochem. Zeitschr. 1921, Bd. 120, Bd. 123, Heft 5/6; 1924, Bd. 151, Heft 1/2.

26 Kattermann: Bot. Archiv 1930, Bd. 28, Heft 1/2.

Kisser: s. Klein und Kisser.

27 Klein und Kisser: Sitzungsber. d. Akad. d. Wissensch. math.-naturw. Klasse, Abteilung 1, Wien 1925, Bd. 134, Heft 3/4.

28 Klein. Eigner und Müller: Hoppe-Seyler Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 159, Heft 5/6.

29 Koehler: Planta, 1930, Bd. 8, Heft 1—2, Bd. 10, Heft 3.

30 Kostitschew: Zeitschr. f. physiol. Chemie 1920, Bd. 3, S. 173.

31 Kylin: Jahrb. f. wissensch. Bot. 1914, Bd. 53.

32 Laurent: Annales de l'Institut Pasteur 1889, 1. März, S. 362.

33 Lindau: Lafar, Handbuch d. techn. Mykologie, Jena 1925, Bd. 4, S. 270.

34 Lindner und Wichmann: in Lafar, Handbuch d. techn. Mykologie, Bd. 5, S. 163.

35 Mevius: Reaktion des Bodens und Pflanzenwachtum. München-Freising, 1927.

36 Meyer: Mikroskop. Prakt. II, S. 80. Jena 1903.

Müller, s. Klein, Eigner und Müller.

37 Neuberg und Kobel: Biochem. Zeitschrift, Bd. 174, Heft 4/6, 1926.

38 Oppenheim: Lehrbuch der Enzyme. Leipzig 1927.

39 Pfeiffer: Die Elektrizität und Eiweiße. Dresden und Leipzig, 1929.
40 Pryanischnikow: Die Einheitlichkeit der Prinzipien im Stoffwechsel bei Pflanzen und Tieren. Vortrag auf der russischen Naturforscherwoche in Berlin 1927.
41 Rippel: Archiv für Mikrobiologie 1931, Bd. 2, Heft 1.
42 Ritter: Ber. d. Deutsch. Botan. Ges. 1911. Bd. 29, S. 570.
43 Rubner: Die Ernährungsphysiologie der Hefezellen bei alkoholischer Gärung, Leipzig 1913.
44 Schmidt: Biochem. Zeitschr., Bd. 158, Heft 1/3.
45 Schnegg: Das mikroskop. Prakt. d. Brauers, Stuttgart 1922, S. 63.
46 Schostakowitsch: Flora 1895, Bd. 81, S. 362.
47 Schroeder: Jahrb. f. wiss. Botanik, 1931, Bd. 75, Heft 2.
48 Sieber: zit. nach Czapek, Biochemie der Pflanzen, 1925, Bd. 2, S. 127.
49 Sorauer: Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Berlin 1928, Bd. 2, S. 616.
50 Strugger: Sitzungsbericht der Akademie der Wissenschaften in Wien 1925, math-. naturwissenschaftliche Klasse, Abt. 1, Bd. 137, Heft 3/4.
51 Tengwall: Untersuchungen über Rußtaupilze. Über einen bisher unbekannten Fall von Symbiose von Algen und Pilzen: Mededeelingenuit Het Phytopathologisch Laboratorium "Willie Commelin Scholten" Baarn, April 1924.
52 Ternetz: Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1904, Bd. 22, S. 267.
53 Wattermann: Vorles. kon. acad. Wel Amsterdam 1913, 1004/1009.
54 Wiesner: Die Rohstoffe des Pflanzenreichs. Leipzig 1927.
Wichmann: s. Lindner und Wichmann.
55 Zondeck: Die Elektrolyte, ihre Bedeutung für Physiologie und Pathologie und Therapie. Berlin 1927.
56 Zopf: Die Pilze. Breslau 1890. S. 753.

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik, Gliesmarode-Braunschweig.
(Arbeitsgemeinschaft Biologische Reichsanstalt — Botanisches Institut Braunschweig.)

Ueber die Beeinflussung der Rostanfälligkeit durch Eintauchen geimpfter Blätter in Lösungen von Mineralsalzen und anderen Stoffen.

Von

G. Gaßner und K. Hassebrauk.

(Mit 5 Textabbildungen.)

Inhaltsverzeichnis: I. Einleitung und Methodik. — II. Das Versuchsmaterial. — III. Versuche mit Kalisalzen. — IV. Versuche mit Phosphorsäuresalzen. — V. Versuche mit Stickstoffverbindungen. — VI. Weitere Versuche mit Stickstoffverbindungen. — VII. Versuche mit abgeänderter Methodik. — VIII. Besprechung der Ergebnisse. — IX. Zusammenfassung. — X. Schriftenverzeichnis.

I. Einleitung und Methodik.

Um den unmittelbaren Einfluß von Kali-, Phosphor- und Stickstoffverbindungen auf das Rostverhalten zu prüfen, sind diese Stoffe in den folgenden Untersuchungen in der Weise zur Anwendung gekommen, daß die geimpften Blätter während der Nachtstunden in Lösungen der zu prüfenden Stoffe getaucht wurden. Aus verschiedenen Beobachtungen können wir schließen, daß es unter diesen Bedingungen zu einer Aufnahme der gebotenen Nährstoffe kommt. So bilden eisenfrei herangezogene Pflanzen an denjenigen Stellen Chlorophyll, die mit Lösungen von Eisensalzen bepinselt sind (Gris, [9] u. a.). Mayer (18) hat 1874 nachgewiesen, daß Weizenpflanzen durch die oberirdischen Pflanzenteile Ammoniumkarbonat in Lösung aufnehmen können. Weitere Angaben über die Aufnahme von Nährsalzen durch die Blätter verdanken wir Boehm (2), Boussingault (3), Nerger (20), Kerpely (17), L. und E. Hiltner (10—16), sowie Domontovič und Železnow (4). Auch die Untersuchungen von Frank und Krüger (6) über die Einwirkung von Kupfersalzen auf die Blätter der damit bespritzten Pflanzen müssen im Zusammenhang mit dem Vorstehenden erwähnt werden.

In den eben angeführten Arbeiten ist die oberirdische Zufuhr von Salzen und anderen Stoffen ganz überwiegend durch Bespritzen oder Bepinseln der Blätter vorgenommen. Für exakte vergleichende Untersuchungen

ist diese Methode jedoch nicht brauchbar, da es nicht möglich ist, die erforderliche gleichmäßige Verteilung in hinreichend genauer Weise durchzuführen. Bei Getreideblättern ist außerdem die feine Wachsschicht der Blattoberflächen besonders stark störend, da sie die Haftfähigkeit verschlechtert und größere Flüssigkeitstropfen zum vorzeitigen Ablaufen bringt. Wesentliche Vorteile gegenüber dem Bespritzen, insbesondere die Gewähr einer gleichmäßigen Einwirkung und sicheren Dosierung der zu prüfenden Nährstoffe bietet das Eintauchen der Blätter in Flüssigkeiten. Dies Verfahren ist zum Teil bereits von Mayer und Boehm angewendet. Selbstverständlich kann es sich nicht um eine Dauerkultur der oberirdischen Pflanzenteile unter Wasser handeln. Jedoch zeigten uns schon die ersten Vorversuche, daß es völlig genügt, die in Luft herangezogenen Blätter für eine bestimmte Anzahl von Stunden täglich in die zu prüfenden Lösungen einzutauchen und die übrige Zeit unter natürlichen Bedingungen, also in Luft, zu halten.



Abb. 1.
Versuchspflanzen bei Anzucht in Gartenerde und Einhängegefäße.

Aus naheliegenden Gründen findet das Eintauchen der Blätter zweckmäßig in den Nachtstunden statt, während die Pflanzen am Tage in normaler Weise assimilieren können.

Im einzelnen gestaltet sich die Versuchsdurchführung folgendermaßen: Das Eintauchen der Blätter läßt sich am einfachsten so bewerkstelligen, daß die Pflanzen in umgekehrter Stellung über Behältern angeordnet werden, welche die Lösungen enthalten. Um ein Herausfallen des Bodens während des Umdrehens der Versuchsgefäße zu verhindern, müssen diese mit Gaze bespannt werden. Das Bespannen erfolgt bereits unmittelbar nach der Aussaat; die sich entwickelnden Pflänzchen durchbrechen ohne Schwierigkeit die Gazebespannung. Art der Pflanzenanzucht und Durchführung des Einhängens in die Versuchslösungen geht aus den Abbildungen 1—4 hervor. Die Behandlungsdauer beträgt täglich etwa 12 Stunden: die Pflanzen werden abends gegen 8 Uhr eingehängt und morgens gegen 8 Uhr heraus-



Abb. 2.
Einhängeversuch bei Anzucht der Versuchspflanzen in Gartenerde.

genommen, wonach die Blätter durch Eintauchen in reines Wasser abgespült werden. Hierdurch wird vermieden, daß bei dem Wiederaufrichten der Anzuchtgefäße Reste der Salzlösungen in den Boden gelangen.

Als Versuchsgefäße dienten entweder Blumentöpfe oder weithalsige Glasflaschen von 200 g Inhalt (vgl. Abbildungen 1—4), als Boden entweder normale Gartenerde oder Quarzsand, der in der früher angegebenen Weise mit Nährlösung vermengt war (8, S. 538). Die hierbei verwendete Nährlösung enthielt im allgemeinen alle erforderlichen Bestandteile mit Ausnahme derjenigen, welche den Pflanzen durch Einhängen der Blätter dargeboten werden sollten; die Nährlösungen für Versuche mit Einhängen in Lösungen von Stickstoffverbindungen waren also N-frei, für solche in Phosphatlösungen P-frei gewählt. Da bei absolutem Kalimangel die infizierten Blätter vorzeitig absterben, wurde für die Kaliversuche dem Sand eine Nährlösung zugesetzt, welche den 20. Teil der normalen Kaligabe enthielt. Einzelheiten über die für die Anzuchtgefäße sowie für die Einhängeversuche benutzten Lösungen sind an späterer Stelle wiedergegeben.

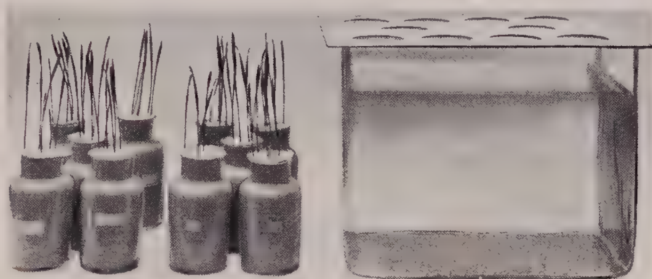


Abb. 3.
Versuchspflanzen bei Anzucht in Sand mit Nährlösung und Einhängegefäß für größere Versuchsreihen.

Die Impfung der Versuchspflanzen erfolgte in der bereits an anderer Stelle beschriebenen Weise durch Übertragen einer Sporenaufschwemmung mittels eines Wattepinsels; geimpft wurde jeweils wieder das erste Blatt. Die Pflanzen verblieben dann in üblicher Weise zunächst zwei Tage unter Glocken. Erst dann erfolgte ihre Behandlung durch Einhängen der Blätter in die verschiedenen Lösungen. Dieses Einhängen wurde im allgemeinen in vier aufeinander folgenden Nächten durchgeführt; während der weiteren Versuchsdauer bis zum Hervorbrechen der Pusteln bzw. bis zum Versuchsabschluß blieben die Pflanzen ohne weitere Behandlung unter üblichen Gewächshausbedingungen stehen. Der Versuch



Abb. 4.
Einhängeversuch bei Anzucht der Versuchspflanzen in Sand mit Nährlösung.

wurde abgeschlossen, wenn keine weiteren Änderungen des Infektionsbildes mehr eintraten.

Die Festlegung des Befallsgrades fand in der ebenfalls früher eingehend beschriebenen Weise statt, wobei in erster Linie das Bild des Infektionstypus zugrundegelegt wurde; es bedeutet also 0 die höchste Resistenz = ausschließliches Auftreten nekrotischer Verfärbungen ohne Pusteln, 4 den höchsten Befallsgrad = volle Pustelbildung an nicht oder kaum verfärbten Blatteilen. Bezüglich Einzelheiten der Ablesungen, insbesondere hinsichtlich der genaueren Charakterisierung der Infektionstypen sei auf unsere älteren Ausführungen (8) verwiesen.

Da mit der Möglichkeit gerechnet werden mußte, daß an den Blättern auftretende Verfärbungen oder andere Veränderungen nicht durch die Impfung, sondern bereits durch das Eintauchen der Blätter in die Salzlösungen verursacht werden können, wurden zu jeder Versuchsreihe und für jede Behandlungsart gleichzeitig auch nicht geimpfte Pflanzen in der gleichen Weise in Lösungen getaucht. Im Hinblick darauf, daß durch das Impfen der Blätter mittels Wattepinsels die Wachsschicht entfernt und damit eine veränderte Aufnahme der Salze gegenüber gänzlich unbehandelten Blättern bedingt wird, wurden die Kontrollpflanzen in der gleichen Weise wie die geimpften mit einem Wattepinsel behandelt, der aber statt mit sporenhaltiger mit reiner Agarlösung befeuchtet war.

In einigen besonderen Versuchsreihen, die in Abschnitt VII angeführt sind, erfolgte das Eintauchen der Versuchspflanzen nicht, wie eben angegeben, nach der Impfung, sondern vorher. Die in den Abschnitten III bis VI angeführten Hauptversuche sind jedoch ausnahmslos mit der eben geschilderten Versuchsmethodik durchgeführt.

II. Das Versuchsmaterial.

Sämtliche im folgenden mitgeteilten Versuche sind mit *Puccinia triticina* Erikss. Form. XIV durchgeführt.

Als Versuchspflanzen kamen die gleichen Weizensorten zur Verwendung, die in unseren früheren Versuchen (8) über die Beeinflussung der Rostanfälligkeit durch Düngung benutzt sind. Da auf Grund der s. Zt. erhaltenen Ergebnisse mäßig resistente Sorten am stärksten auf Unterschiede der Düngung reagieren, wurden auch die im folgenden beschriebenen Einhängeversuche in erster Linie mit solchen Sorten durchgeführt. Daneben liefen gleichzeitig noch zahlreiche Versuche mit hoch anfälligen und hoch resistenten Sorten.

III. Versuche mit Kalisalzen.

Die Anzucht der Versuchspflanzen erfolgte entweder in Hohenbockaer Quarzsand, der zu 70 % seiner wasserhaltenden Kraft mit einer kaliarmen Nährlösung (Wasser 1000, $Ca(NO_3)_2$ sicc. 0,4, $CaHPO_4$ 0,24, $MgSO_4$ 0,25,

Die Sexualität von *Ustilago Scorzonerae* und *Ustilago Zeae*.

Von

R. Bauch.

Mit 4 Textabbildungen.

In der Entwicklungsgeschichte der Brandpilze kann man zwei Phasen unterscheiden. Durch die Keimung der Brandsporen wird die haploide Phase eingeleitet, bei der Sporidien gebildet werden. Die Sporidien ernähren sich saprophytisch und lassen sich meist leicht auf den gebräuchlichen Nährboden kultivieren. Die diploide Phase beginnt mit dem Eintritt von Kopulationen zwischen geschlechtsdifferenten Sporidien. Die kopulierten Sporidien oder die von ihnen gebildeten Produkte, die „Suchfäden" („fusionhyphae" der englischen Autoren) infizieren die Wirtspflanzen und bilden in ihnen ein paarkerniges, diploides Myzel aus, das schließlich unter Kernverschmelzung zur Brandsporenbildung führt. Mit dem Eintritt in die diploide Phase scheint die Ernährungsphysiologie der Pilze grundlegend verändert zu werden. Es ist bisher im allgemeinen nicht gelungen, die paarkernige Phase auf Nährboden zur Vermehrung zu bringen. Sie geht vielmehr zur parasitären Lebensweise über. Auf den üblichen Nährböden spalten die Suchfäden wieder in ihre haploiden Komponenten auf, und nur in wenigen Fällen ist es gelungen, in der Kultur Brandsporen oder sporenähnliche Gebilde zu erhalten.

Nun gibt es aber eine nicht unerhebliche Anzahl von Brandpilzen, bei denen bisher keine Kopulationserscheinungen beobachtet worden sind. Bei solchen Arten mußte also der Eintritt der parasitären diploiden Phase unbekannt bleiben. Man legte sich den Entwicklungsgang derartiger Formen meist in der Weise zurecht, daß man annahm, daß die Infektion der Wirtspflanzen durch haploide Sporidien erfolge, die erst in der Wirtspflanze die Bedingungen zur Kopulation fänden. Man mußte aber auch mit einer anderen Möglichkeit rechnen. Wir wissen, daß zum Eintritt der Kopulationen zwischen geschlechtsdifferenten Sporidien ganz besondere Milieubedingungen gewahrt sein müssen. Diese sind besonders für den Antherenbrand (Bauch 1922) studiert worden. Bei diesem Pilz müssen bestimmte pH-Konzentrationen des Mediums, reichlicher Zutritt von Sauerstoff und bestimmte Temperaturgrenzen geboten werden, um reichlich Kopulationen zu erzielen. Neuerdings habe ich (Bauch 1930 und 1932) an Stelle der früher verwendeten flüssigen Medien gewöhnlichen Malzagar (3 % Biomalz, 2 % Agar) benutzt und damit bei *Ustilago longissima* und

Sphacelotheca Schweinfurthiana sicher Kopulationen erzielen können. Diese Methode hat noch den Vorteil, daß man an der Form der Kolonien mit unbewaffnetem Auge kopulierende von nicht reagierenden Kombinationen unterscheiden kann. Angesichts der Tatsache, daß auch den kopulierenden Arten ziemlich eng umrissene Milieubedingungen geboten werden müssen, um sie zur Kopulation zu veranlassen, mußte man mit der Möglichkeit rechnen, daß bei den nichtkopulierenden Arten die Kopulationsbedingungen nicht richtig getroffen waren und daß demzufolge die Kopulation unterbleiben mußte. Eine generelle Entscheidung, welche der beiden Annahmen zutrifft, war bisher nicht möglich und mußte weiteren Einzeluntersuchungen überlassen bleiben.

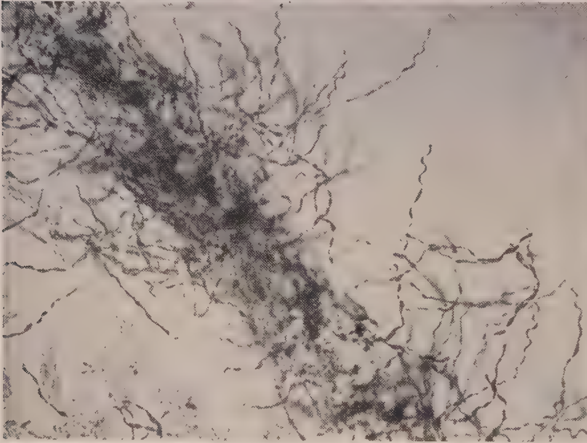


Abb. 1.
Ustilago Scorzonerae. Suchfäden am Rande einer zwei Tage alten Kombinationskolonie. Zirka 100 : 1.

Zu den nichtkopulierenden Arten wurde bisher auch *Ustilago Scorzonerae* (Alb. et Schw.) Schroeter gerechnet, der in den Blüten von *Scorzonera humilis* L. vorkommt und sie vollkommen zerstört. Die Keimung der Brandsporen ist von Tulasne (1854), Brefeld (1895) und allem Anschein nach auch von Federley (1903) untersucht worden und keiner der Autoren konnte Kopulationen feststellen. Vielfach wird das Ausbleiben der Kopulation als charakteristisches Unterscheidungsmerkmal gegenüber der nah verwandten leicht kopulierenden *U. tragopogi-pratensis* (Pers.) Roussel verwertet. Ich selbst habe den Pilz, der in jedem Frühjahr auf den Wiesen bei Warnemünde auftritt, in früheren Jahren verschiedentlich in Malzlösung in Tröpfchenkulturen zum Keimen gebracht, ohne je Kopulationen zu beobachten. Dagegen gibt Paravicini (1917) an, Kopulationen beobachtet zu haben, die zu zweikernigen Sporidien führen sollen. Aber weder seine Beschreibung noch seine Bilder sind nach meiner jetzigen Kenntnis des Pilzes beweisend. Vermutlich werden ihm sprossende, bereits zweikernige Sporidien vorgelegen haben, die er falsch gedeutet hat. In diesem Frühjahr kultivierte ich den Pilz an Stelle in Malzlösungen in Tröpfchenkulturen direkt auf Malzagar und war überrascht, schon nach einigen Tagen die aus den Brandsporen hervorgehenden Kolonien mit einem dichten weißen Luftmyzel bedeckt zu finden, das aus

typischen Suchfäden bestand (Abb. 1). Bei mikroskopischer Untersuchung ließen sich dann leicht Kopulationsstadien auffinden. In Einsporidienkulturen treten die Suchfäden nie auf. Bei der gegenseitigen Abtestung meiner Einsporidienkulturen stellte sich dann heraus, daß bei *U. Scorzonerae* zwei Sporidiensorten vorliegen, die immer wechelseitig kopulieren. Wie deutlich die Unterschiede zwischen reagierenden und nicht reagierenden Kombinationen sind, zeigt Abb. 2, die einen Kombinationsversuch eines Stammes mit acht anderen Einsporidienstämmen wiedergibt. Die reagierenden Kombinationskolonien sind schon nach 1—2 Tagen mit einem dichten weißen Luftmyzel aus typischen Suchfäden bedeckt.



Abb. 2.
Ustilago Scorzonerae. Agarplatte mit Kombination eines Teststammes mit acht zu prüfenden Stämmen. Die zentrale Kolonie ist die Kontrolle des Teststammes, der mittlere Koloniekreis die Kontrollen der zu prüfenden Stämme. Die peripheren Kolonien stellen die Kombinationen dar, von denen die vier oberen unter Suchfadenbildung reagieren, die vier unteren keine sexuelle Reaktion zeigen. Zwei Tage alt.

Dieser Erfolg mit der Agarmethode veranlaßte mich, einige ähnliche Versuche mit dem vielberufenen Maisbrand anzustellen. Keimfähiges Brandsporenmaterial stellte mir Herr Dr. Zillig-Berncastel zur Verfügung, wofür auch an dieser Stelle herzlichst gedankt sei. Dieser Pilz wurde lange zu der Gruppe der „nichtkopulierenden“ Arten gerechnet und erst Sleumer (1932) ist es kürlich gelungen, bei ihm mit Sicherheit Sexualreaktionen zu erzielen. Durch die mühevollen Infektionsversuche von Stakman und Christensen (1927), Hanna (1929) und durch die ausgedehnten Untersuchungen von Christensen (1929 und 1931) wußte man schon vor dem Erscheinen der Arbeit Sleumers, daß der Maisbrand in ähnlicher Weise wie *U. longissina* nicht in zwei, sondern in mehrere Geschlechtstypen zerfällt, die das charakteristische Bild einer multipolareu Sexualität bedingen. Während man aber bei *U. longissima* und *Sphacelotheca Schweinfurthiana* eine exakte genetische Formulierung der einzelnen Haplontentypen durchführen konnte, ist dies Sleumer nicht gelungen. Immerhin konnte er aber die für diese Form der Sexualität charakteristischen beiden Kopulationsformen, den „Suchfadentyp“ und den „Wirrfadentyp“ feststellen. Ohne auf die theoretische Seite der Erscheinung weiter einzugehen zu wollen, sei nur gesagt, daß der multipolaren Sexualität ein Zusammenwirken von zwei funktionell verschiedenen Fak-

torengruppen zugrunde liegt, die beide in multiplen Allelenreihen auftreten können. Die eine Faktorenserie (B-Reihe) wird als multiple Variation des Geschlechtsfaktors im engeren Sinne angesehen. Von ihm sind für *U. longissima* 3 Allele bekannt. Kombinationen von Haplonten mit verschiedenen Geschlechtsgenen führen immer zu Sexualreaktionen. Die Form der Sexualreaktion hängt aber von der jeweiligen Kombination der Sterilitätsfaktoren (A-Reihe) ab. Von diesen Genen sind für *Ustilago longissima* 9 Allele bekannt. Sie bewirken, daß bei der Kombination von Haplonten mit identischen Sterilitätsfaktoren die Suchfadenbildung unterdrückt wird und an ihrer Stelle die merkwürdigen Bilder der „Wirrfadenreaktion" auftreten. Derartige Haplontenkombinationen sind nicht zu weiterer Entwicklung befähigt und vermögen auch keine Infektionen der Wirtspflanzen herbeizuführen.



Abb. 3.
Ustilago Zeae. Rand einer Kombinationskolonie mit Suchfadenbildung. Einen Tag alt. Zirka 100 : 1.

Bei meinen Aussaaten von Maisbrandsporen auf Malzagar ließ sich schon sehr bald nach dem Erscheinen der Kolonien das Auftreten von typischen Suchfäden feststellen (Abb. 3). Sie strahlen entweder vom Kolonierand in den Nährboden aus oder überziehen das Innere der Kolonie mit einem dichten Luftmycelpelz. Bei der Kombination von Einsporidienkulturen ließen sich die Sexualreaktionen ohne Schwierigkeiten erzielen. Schon nach 24 Stunden kann man meist in entsprechenden Kombinationen mit unbewaffnetem Auge das pelzige Luftmyzel wahrnehmen, das nach 2 Tagen dann in allen Fällen deutlich wird (Abb. 4). Bei mikroskopischer Betrachtung mit schwacher Vergrößerung (Leitz Objektiv 3) läßt sich aber generell schon nach einem Tag die Reaktion erkennen. Hierbei können allerdings „Luftkonidien", wie sie auch Brefeld schon gesehen hat, manchmal Suchfäden vortäuschen. Bei einiger Übung ist aber eine Unterscheidung dieser Gebilde von den Suchfäden leicht möglich. Später legen sich die in die Luft starrenden Suchfäden meist wieder dem Substrat an und das pelzige Aussehen der Kolonien verschwindet. Dafür treten in älteren Kolonien Suchfädensäume auf, die in ähnlicher Weise wie bei *Ustilago longissima* durch Aufspalten der Suchfäden in ihre haploiden Komponenten entstehen. Um den Luftmyzelpelz noch besser zur Darstellung zu bringen, verwendete ich nach einigen orientierenden Versuchen schließlich einen konzentrierteren

Agar (3—4 %), der alle Erscheinungen besser zeigt als der 2 % Agar. In Objektträgerpräparaten kann man sich die Kopulationsstadien leicht zur Darstellung bringen. Am zweckmäßigsten ist es, hierfür nur junge, einen Tag alte Kolonien zu verwenden, da in älteren Kulturen die kopulierten Sporidien gegenüber der Menge der sich lebhaft vermehrenden Sporidien an Zahl zurücktreten und dann nur noch nach längerem Suchen gefunden werden können. Die Suchfadenkopulationen entsprechen in allen Einzelheiten der Schilderung, die Sleumer von ihnen gibt. In Kombinationen bestimmter Stämme finden sich auch die Wirrfadenreaktionen. Diese treten weder im Habitusbild der Kolonien noch bei Betrachtung der Kolonieoberfläche mit schwacher Vergrößerung in Erscheinung. Zu ihrer Feststellung muß man Präparate, am besten ebenfalls von 24 Stunden alten Kombinationskolonien anfertigen, in denen man die charakteristischen Fadenbildungen und Verflechtungen meist leicht auffinden kann. Der Schilderung, die Sleumer von ihnen gibt, habe ich nichts hinzu zu setzen. Bezüglich der Außentemperatur scheint der Maisbrand nicht sehr wählerisch zu sein. Ich erhielt sowohl bei 20° wie bei 30° C gute Reaktionen. Unterhalb von 20° C schienen mir die Reaktionen weniger schnell und intensiv zu verlaufen.



Abb. 4.
Ustilago Zeae.
Sechs Tage alte — und + Kombinationskolonien. Die rechte Kolonie zeigt den Saum aus Suchfäden und das pelzige Luftmyzel aus Suchfäden im inneren Kolonieteil.
Zirka 3 : 1.

Von einer größeren Anzahl von Brandsporenkolonien hatte ich 100 Einsporidienstämme gezogen. Diese ließen sich ausnahmslos in das Schema der Tabelle 1 einreihen. Wir entnehmen daraus, daß bei diesen Stämmen zwei Gene der B-Reihe vorliegen, die mit sechs Genen der A-Reihe kombiniert sind. Vier A-Faktoren wurden in Kombination mit beiden B-Faktoren gefunden. Bei zwei weiteren A-Faktoren (A^4 und A^5) fehlten die Haplonten mit je einem der B-Faktoren. Es bereitet aber keine Schwierigkeiten, sich die Reaktionen der fehlenden Stämme theoretisch vorzustellen. Möglicherweise sind unter meinen Stämmen noch weitere A-Faktoren vertreten. Für einige Stämme nämlich ließ sich die Ordnungszahl der A-Faktoren nicht ermitteln, da sie mit keinem Teststamm Wirrfadenreaktionen gaben.

Durch das Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, erhielt ich eine Anzahl von Stämmen, die von Sleumer zu seinen Versuchen verwendet worden waren. Diese ließen sich ohne Schwierigkeiten in mein Faktorenschema einreihen und zwar entsprachen seine Stämme folgenden Genotypen:

Stamm	4, 5	$= A\ B$
„	7, 15	$= A^2 B$
„	1, 6, 14, 101	$= A^2 B^1$
„	3, 102, 105	$= A^3 B$
„	11, 12, 13	$= A^3 B^1$

Vergleicht man die Kombinationstabelle von Sleumer (Tabelle 3) hiermit so zeigt sich, daß bei Sleumer einige Wirrfadenreaktionen ausgefallen sind. Dieser Ausfall ist vermutlich auf das Konto ungünstiger Außenbedingungen zu setzen. Nach der Agarmethode untereinander kombiniert reagierten die Sleumerschen Stämme fast alle erwartungsgemäß. Nur waren die Reaktionen insgesamt schwächer und bei einigen blieben sogar theoretisch erwartete Reaktionen aus. Das mag an dem Alter der Kulturen liegen und stimmt mit den Erfahrungen an anderen Brandpilzen überein, bei denen ältere Stämme meist ebenfalls schlechter reagieren als frisch isolierte. Insgesamt zeichneten sich die Sleumerschen Stämme auch durch ganz besonders starke Ausbildung von Luftsporidien und durch myzeliges Auswachsen der Sporidien aus.

Aus den Untersuchungen der amerikanischen Autoren konnte man vermutungsweise entnehmen, daß beim Maisbrand ähnlich wie bei vielen multipolar sexuellen Hymenomyzeten eine größere Anzahl von Faktoren der B-Reihe vorliege. Das ist aber bei den bisher geprüften deutschen Stämmen nicht der Fall. Man wird deshalb einer Durcharbeitung der amerikanischen Stämme mit besonderem Interesse entgegensehen können.

Zusammenfassung.

1. Mit der „Agarmethode“ gelingt es leicht, bei *Ustilago Scorzonerae* und *Ustilago Zeae* Sexualreaktionen zu erhalten.
2. *Ustilago Scorzonerae* ist bipolar sexuell.
3. Bei *Ustilago Zeae* konnten in ähnlicher Weise wie bei *Ustilago longissima* Suchfaden- und Wirrfadentyp der Kopulation unterschieden werden. Unter 100 isolierten Einsporidienstämmen konnten 6 Sterilitätsfaktoren und 2 Sexualfaktoren festgestellt werden.
4. Teststämme der verschiedenen Genotypen des Maisbrandes sind dem Centralbureau voor Schimmelcultures, Baarn, überwiesen.

Tabelle 1.
Reaktionsschema von zehn Haplontentypen vom Maisbrand.

		4	6	24	3	1	5	2	14	15	18
		00	*10*	*20*	*30*	*40*	*01*	*11*	*21*	*31*	*51*
4	*00*	—	—	—	—	—	**W**	+	+	+	+
6	*10*	—	—	—	—	—	+	**W**	+	+	+
24	*20*	—	—	—	—	—	+	+	**W**	+	+
3	*30*	—	—	—	—	—	+	+	+	**W**	+
1	*40*	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
5	*01*	**W**	+	+	+	+	—	—	—	—	—
2	*11*	+	**W**	+	+	+	—	—	—	—	—
14	*21*	+	+	**W**	+	+	—	—	—	—	—
15	*31*	+	+	+	**W**	+	—	—	—	—	—
18	*51*	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—

+ = Suchfadenreaktion } bei Ablesung mit schwacher Vergrößerung oder
— = keine Suchfäden } unbewaffnetem Auge,
W = Wirrfadenreaktion.

Bei der faktoriellen Bezeichnung sind nur die Indices angegeben.; *10* z. B. wäre zu lesen A^1B.

Literaturverzeichnis.

Bauch, R. 1922. Kopulationsbedingungen und sekundäre Geschlechtsmerkmale bei Ustilago violacea. Biol. Zentralbl. **42**.

Bauch, R. 1930. Über multipolare Sexualität bei Ustilago longissima. Archiv für Protistenkunde. **70**.

Bauch, R. 1932. Sphacelotheca Schweinfurthiana, ein neuer multipolar sexueller Brandpilz. Ber. d. Deutschen Bot. Ges. **50**.

Brefeld, O. 1895. Brandpilze III in Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Münster i. W.

Christensen, I. I. 1929. Mutation and Hybridization in Ustilago Zeae. Part 2 Hybridization. Univ. of Minnesota. Agr. Exp. Stat. Techn. Bull. 65.

Christensen, I. I. 1931. Studies on the Genetics of Ustilago Zeae. Phytopathologische Zeitschrift. **4**.

Federley, H. 1903. Die Kopulation der Konidien bei Ustilago Tragopogii pratensis Pers. Öfversigt af Finska Vetensk. Soc. Förhandl. **46**.

Hanna, W. F. 1929. Studies in the physiology and cytology of Ustilago Zeae and Sorosporium Reilianum. Phytopathology **19**.

Paravicini, E. 1917. Untersuchungen über das Verhalten der Zellkerne bei der Fortpflanzung der Brandpilze. Ann. Mycol. **15**.

Sleumer, H. O. 1932. Über Sexualität und Zytologie von Ustilago Zeae (Beckm.) Unger. Zeitschr. f. Bot. **25**.

Stakman, E. C., and Christensen, I. I. 1927. Heterothallism in Ustilago Zeae. Phytopathology. **17**.

Tulasne, L. 1854. Seconde Mémoire sur les Urédinées et les Ustilaginées. Ann. Sci. nat. IV, 2.

Personalnachrichten.

Dr. W. B. Brierley ist als Nachfolger von J. Percival zum Professor an der Universität Reading und Direktor der Abteilung für landwirtschaftliche Botanik ernannt worden.

Die Deutsche Botanische Gesellschaft hat gelegentlich der Feier ihres 50jährigen Bestehens Prof. Dr. Joh[a] Westerdijk zum korrespondierenden Mitglied gewählt.

K_2SO_4 0,03, NaCl und $FeCl_3$ Spuren) versetzt war,[1]) oder in gewöhnlicher Gartenerde. Für das Einhängen der Blätter wurden auf gleichen K-Gehalt eingestellte Lösungen von KCl, K_2SO_4, KH_2PO_4, K_2HPO_4, K_3PO_4, KNO_3, KBr und $KHCO_3$ verwendet. Das Einhängen erfolgte in der schon beschriebenen Weise in der 3. bis 6. Nacht nach vorgenommener Impfung.

Die Ergebnisse der mit v. Rümkers frühem Sommerdickkopf als mäßig anfälliger und mit Strubes Dickkopf als anfälliger Sorte durchgeführten Versuche sind in der folgenden Tabelle 1 zusammengefaßt, wobei erwähnt sei, daß sämtliche Versuche in mehrfacher Wiederholung durchgeführt wurden. Da die Ergebnisse der Parallelversuche völlig übereinstimmen, kann von der Einzelaufführung der sich über das ganze Jahr verteilenden Wiederholungsversuche Abstand genommen werden. Von der Wiedergabe weiterer Versuche mit anderen Weizensorten wird ebenfalls abgesehen. Die mit der mäßig anfälligen Sorte Berkners Continental durchgeführten Versuche decken sich in ihren Ergebnissen weitgehend mit den auf v. Rümkers Sommerdickkopf erhaltenen Resultaten, während Versuche mit anderen anfälligen Sorten das gleiche Bild brachten wie die mit Strubes Dickkopf durchgeführten Versuchsreihen. Von Versuchen mit hochresistenten Sorten wurde im Hinblick darauf, daß hier höchstens ganz schwache Resistenzänderungen erwartet werden können, Abstand genommen.

In Übereinstimmung mit unseren früheren Bodendüngungsversuchen, die eine resistenzsteigernde Wirkung der Kalisalze erbracht hatten, können wir auch bei der vorliegend angewendeten Versuchsmethodik eine mehr oder minder ausgesprochene Erhöhung der Resistenz als Folge der gesteigerten Kalizufuhr beobachten. Vergleichen wir die im Vorstehenden wiedergegebenen Versuche mit unseren früheren Feststellungen, so ergibt sich sogar, daß die Kaliwirkung noch ausgesprochener ist, wenn statt des üblichen Kalizusatzes zum Boden die Zufuhr durch Eintauchen der Blätter in Kalisalzlösungen vorgenommen wird. So wird bei dem nach unseren früheren Untersuchungen auf Änderungen der Mineralsalzernährung gut reagierenden v. Rümker'schen frühen Sommerdickkopf der Infektionstypus nunmehr von IV bzw. III auf I—II und unter Umständen sogar auf 0 verschoben. Die durch das Einhängen der Blätter bewirkte stärkere Wirkung der Kalisalze geht weiter besonders daraus hervor, daß auch der anfällige Dickkopfweizen eine nachweisbare Verschiebung des Infektionstypus nach der resistenten Seite hin erfährt.

In einigen Versuchsreihen wurden sowohl an den geimpften wie an nicht geimpften Pflanzen gewisse Schädigungen beobachtet, die in Tabelle 1 ebenfalls kurz erwähnt sind. Eigenartigerweise zeigten in bestimmten Fällen außerdem auch Pflanzen, die statt in Kalisalzlösungen in Wasser eingehängt

[1]) Bezüglich Einzelheiten, insbesondere der Pufferung des Nährbodens mit Calciumpermutit und Calciumkarbonat sei auf unsere früher gebrachten Ausführungen (8, S. 538) verwiesen.

waren, schwache Spitzenschäden mit schmutzig-braunen Verfärbungen. Diese Pflanzen erinnern an die bei absolutem Kalimangel beobachteten Schädigungsbilder. Offensichtlich bewirkt das Einhängen der Pflanzen in reines Wasser ein Auswaschen von Salzen aus den Blättern, wobei auf die entsprechenden Untersuchungen von Seiden (21) verwiesen sei. Für die Richtigkeit dieser Deutung spricht die Tatsache, daß solche Kalimangelbilder nach Einhängen in Wasser nur bei solchen Pflanzen auftreten, die in Sand mit kaliarmer Nährlösung angezogen sind. Die bei Behandlung mit starken Kalisalzlösungen zuweilen auftretenden Spitzenschäden bieten ein anderes Bild: sie sind bei stärkeren Konzentrationen gewisser Kaliphosphate, ferner bei Kaliumbikarbonat und Kaliumbromid zu beobachten

Tabelle 1.

Verschiebung des Infektionstypus von *Puccinia triticina* durch Einhängen der geimpften Blätter in Kalisalzlösungen.

Sorte:	v. Rümkers früher Sommerdickkopf	v. Rümkers früher Sommerdickkopf	Strubes Dickkopf
Anzucht in:	Quarzsand mit kaliarmer Nährlösung	Gartenerde	Gartenerde
Rostbild der unbehandelten Kontrollpflanzen:	IV	III	IV
Rostbild nach dem Einhängen in: H_2O	fast IV [3]	III	IV
1/16 mol KCl		II	III—IV
1/32 mol KCl	III—IV	II	fast IV
1/64 mol KCl		II—III	IV
1/32 mol K_2SO_4		I—II	III—IV
1/64 mol K_2SO_4	III—IV	II—I	IV—III
1/128 mol K_2SO_4		II—III	IV
1/16 mol KH_2PO_4		II—III [3]	0 [1]
1/32 mol KH_2PO_4	III—IV	II—III	III—IV [2]
1/64 mol KH_2PO_4		III	fast IV
1/32 mol K_2HPO_4		0	II
1/64 mol K_2HPO_4	II	I	II—III
1/128 mol K_2HPO_4		II	III—IV
1/48 mol K_3PO_4		II [2]	III [2]
1/96 mol K_3PO_4		II [2]	fast IV
1/192 mol K_3PO_4		III	IV
1/16 mol KNO_3		II	IV
1/32 mol KNO_3		II—III	IV
1/64 mol KNO_3		III—IV	IV
1/32 mol $KHCO_3$		0 [3]	III [2]
1/32 mol KBr	III—IV [3]	II [3]	IV

[1]) Die infizierten Blätter sterben sehr schnell unter schmutziger Nekrose ab.

[2]) Starke nekrotische Spitzenschäden.

[3]) Schwache nekrotische Spitzenschäden.

und müssen naturgemäß bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse berücksichtigt werden.

Ein Vergleich der resistenzerhöhenden Wirkung der verschiedenen Kalisalze zeigt die stärkste Verschiebung des Rostbildes nach der resistenten Seite bei den Kaliphosphaten und bei Kaliumbikarbonat, die geringste beim Kaliumnitrat; bei den Kaliphosphaten läßt sich allerdings nicht immer scharf zwischen Resistenzsteigerung und den Folgen der zuweilen vorliegenden schwachen Schädigungen unterscheiden. Die Wirkung der anderen Kalisalze liegt zwischen diesen beiden Extremen. Kaliumsulfat bewirkt stets eine etwas stärkere Resistenzerhöhung als Kaliumchlorid. In allen Fällen dürfen naturgemäß nur Lösungen gleichen Kaligehaltes in unmittelbaren Vergleich gesetzt werden, was bei der gewählten Versuchsanordnung, also im Hinblick auf die Verwendung entsprechend verdünnter molarer Lösungen ohne weiteres möglich ist.

Aus den Versuchen folgt somit, daß neben der offensichtlichen Kaliwirkung auch ein unverkennbarer Einfluß der Anionen vorliegt. Die besonders starke resistenzsteigernde Wirkung der Kaliphosphate dürfte sicherlich mit auf den Einfluß der Phosphorsäure, z. T. auch auf die starke hydrolytische Spaltung zurückzuführen sein, während umgekehrt bei Kaliumnitrat die gleichzeitige Erhöhung des Stickstoffgehaltes die resistenzsteigernde Wirkung des Kaliums nicht voll zutage treten läßt.

Bei KCl und K_2SO_4 ist die Frage nach der Rolle der Anionen im einzelnen schwer zu beantworten. In besonderen Versuchsreihen haben wir zunächst die Wirkung von Kaliumchlorid mit derjenigen anderer Chloride verglichen. Zur Verwendung kamen 1/32 molare Lösungen von Kaliumchlorid und Natriumchlorid, sowie1/64 molare von Magnesiumchlorid und Calciumchlorid. Calciumchlorid führt auch auf den nicht geimpften Kontrollpflanzen Spitzenschäden der Blätter herbei, während die entsprechenden Lösungen von Magnesiumchlorid schwächer schädigend wirken. Dagegen werden 1/32 molare Lösungen von Natriumchlorid von den Weizenblättern ebensogut vertragen wie die gleich starken Lösungen von Kaliumchlorid.

Die an infizierten Pflanzen erhaltenen Ergebnisse sind bei den einzelnen Chloriden verschieden. Kaliumchlorid bewirkt wieder eine deutliche Verschiebung des Infektionstypus nach der resistenten Seite. Magnesiumchlorid und Calciumchlorid lassen keine wesentlichen Änderungen des Rostbildes erkennen; dagegen führen Natriumchloridlösungen zu einer Resistenzerhöhung, die allerdings etwas schwächer ist als bei den entsprechenden Kaliumchloridlösungen. Von einer spezifischen Rolle des Chlorions können wir also im Hinblick auf die uneinheitliche Wirkung der verschiedenen Chloride, insbesondere auf das Verhalten der Blätter in $MgCl_2$- und $CaCl_2$-Lösungen nicht sprechen, während die Versuchsergebnisse gleichzeitig erkennen lassen, daß das Na-Ion den Rostbefall in ähnlicher Richtung zu beeinflussen vermag wie das Kalium.

Zu den vorstehend erwähnten Versuchen hatte v. Rümkers früher Sommerdickkopf Verwendung gefunden. Die Versuche wurden in gleicher Weise mit dem hoch anfälligen Hohenheimer Sommerweizen 25 f wiederholt. Hierbei mußten die Versuchsreihen mit 1/64 molarer Magnesiumchlorid-Lösung wegen zu starker Schädigungen der Versuchspflanzen ausgeschaltet werden. 1/32 mol Kaliumchlorid bewirkte eine schwache Resistenzerhöhung; 1/32 mol Natriumchlorid und 1/64 mol Calciumchlorid blieben wirkungslos.

Entsprechende Versuche zur Aufklärung der Rolle des Sulfations wurden mit Kaliumsulfat, Magnesiumsulfat und Natriumsulfat durchgeführt. Bei gleichem SO_4-Gehalt der verwendeten Lösungen konnte bei v. Rümkers Sommerdickkopf und Strubes Dickkopf eine deutliche Resistenzerhöhung durch Kaliumsulfat, eine schwache durch Natriumsulfat beobachtet werden, während Magnesiumsulfat wirkungslos blieb. Ein spezifischer Einfluß des SO_4-Ions ließ sich also ebenfalls nicht feststellen; dagegen zeigte sich auch hier wieder, daß außer dem Kalium auch dem Na-Ion eine, wenn auch geringere, so doch immerhin deutlich feststellbare resistenzerhöhende Wirkung zukommt.

Den Ausgangspunkt der vorstehend erwähnten Versuche mit Chloriden und Sulfaten bildete die weiter oben festgestellte Tatsache, daß das Einhängen der Blätter in Kaliumsulfatlösungen die Resistenz meist stärker fördert als die gleiche Behandlung mit entsprechenden Lösungen von Kaliumchlorid. Da eine spezifische Wirkung des Chlor- und Sulfations nach dem eben Gesagten nicht vorliegt, ist es bis jetzt nicht möglich, die bezüglich der Resistenzerhöhung zwischen KCl und K_2SO_4 auftretenden Unterschiede zu erklären.

IV. Versuche mit Phosphorsäuresalzen.

Die Versuchspflanzen wurden sowohl in P-Mangel-Boden (Wasser 1000, $Ca(NO_3)_2$ sicc. 0,4, $MgSO_4$ 0,25, K_2SO_4 0,68, NaCl und $FeCl_3$ Spuren), teils in gewöhnlicher Gartenerde herangezogen[1]). Unterschiede als Folge der verschiedenartigen Anzuchtbedingungen liegen in den Versuchsergebnissen nicht vor, weshalb es genügt, den folgenden Ausführungen die Ergebnisse der Versuche zugrunde zu legen, die mit Pflanzen in Gartenerde durchgeführt sind.

Zur Verwendung kamen die verschiedenen Kalium- und Natriumphosphate sowie Ammoniumphosphat; von der Prüfung der Calciumphosphate nach der Einhängemethode mußte im Hinblick auf die schwere Löslichkeit dieser Salze Abstand genommen werden. Während sich Lösungen von sonstigen Kalisalzen und von Stickstoffverbindungen ohne Nachteil für die Zwecke der vorstehenden Untersuchungen auch mit Leitungswasser ansetzen lassen, darf für Phosphorsäuresalze zur Vermeidung störender Ausfällungen nur destilliertes Wasser genommen werden.

---

1) Bezüglich weiterer Einzelheiten vgl. Gaßner und Hassebrauk (8, S. 538).

Die Versuche wurden wieder sowohl mit mäßig resistenten wie mit anfälligen Sorten durchgeführt, wobei als Vertreter der ersten Gruppe vor allem v. Rümkers früher Sommerdickkopf, als anfällige Sorte überwiegend Strubes Dickkopf benutzt wurden. Die Ergebnisse der einzelnen Wiederholungen stimmen wieder so gut überein, daß es genügt, je eine der mit den erwähnten Weizensorten durchgeführten Versuchsreihen in der folgenden Tabelle 2 wiederzugeben.

Tabelle 2.

Verschiebung des Infektionstypus von *Puccinia triticina* durch Einhängen der geimpften Blätter in Lösungen von Phosphorsäuresalzen.

Sorte:	v. Rümkers früher Sommerdickkopf	Strubes Dickkopf
Anzucht in:	Gartenerde	Gartenerde
Rostbild der unbehandelten Kontrollpflanzen:	III	IV
Rostbild nach dem Einhängen in: H_2O	III	IV
1/32 mol KH_2PO_4	II—III	III - IV [1]
1/64 mol KH_2PO_4	III	fast IV
1/32 mol K_2HPO_4	0	II
1/64 mol K_2HPO_4	I	II—III
1/32 mol K_3PO_4	0—I [1]	— [2]
1/64 mol K_3PO_4	II [1]	III—IV [1]
1/32 mol NaH_2PO_4	II—III	III—IV
1/64 mol NaH_2PO_4	III	IV
1/32 mol Na_2HPO_4	I—0	II
1/64 mol Na_2HPO_4	I	III—II
1/32 mol Na_3PO_4	— [2]	— [2]
1/64 mol Na_3PO_4	— [2]	— [2]
1/32 mol $(NH_4)_2HPO_4$	fast IV	III—IV
1/64 mol $(NH_4)_2HPO_4$	IV—III	IV

Die früher gemachte Feststellung, daß Phosphorsäure resistenzerhöhend wirkt, wenn P im Vergleich zu K und N im Überschuß geboten wird (Gaßner und Hassebrauk 8, S. 551), wird durch die vorstehenden, nach der Einhängemethode gewonnenen Ergebnisse bestätigt und erweitert. Ein Vergleich mit den Ergebnissen der Düngungsversuche zeigt eine wesentlich deutlichere Steigerung der Resistenz durch die verschiedenen Phosphorsalze. Während der Infektionstypus von Rümkers frühem Dickkopf bei Zugabe von Natrium- und Kaliphosphaten zum Boden von III auf etwa II verschoben wird, bedingt die Behandlung nach der

[1]) Starke Spitzenschäden.

[2]) Die meisten Blätter sterben ab.

Einhängemethode mit bestimmten Phosphaten eine Änderung des Typus von III bis auf 0 oder 0—I, also eine gänzliche oder fast völlige Unterdrückung der Pustelbildung.

Bei anfälligen Weizensorten war es früher nicht gelungen, durch Änderung der Phosphatdüngung das im Infektionstypus zum Ausdruck kommende Rostbild zu beeinflussen. Wie die in Tabelle 2 wiedergegebenen Beobachtungen an Strubes Dickkopf zeigen, ist es möglich, bei Anwendung der Einhängemethode die Anfälligkeit stark herabzusetzen und den Infektionstypus von IV auf II oder II - III zu verschieben.

Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse müssen naturgemäß auch die Nebenwirkungen der Kationen in vollem Umfang mit berücksichtigt werden. Die im vorigen Abschnitt wiedergegebenen Versuche zeigen, daß sowohl dem K- als auch dem Na-Ion eine resistenzsteigernde Wirkung zukommt. Wir müssen also einen Teil der starken Verschiebungen des Infektionstypus durch Einhängen der Pflanzen in Kalium- und Natriumphosphatlösungen auf das gleichzeitig gegebene Kalium bzw. Natrium zurückführen. Anderseits zeigt ein Vergleich der in den Tabellen 1 und 2 enthaltenen Befunde, daß die resistenzerhöhende Wirkung der phosphorsauren Salze höher ist als diejenige von KCl und K_2SO_4. Daraus folgt, daß auch die Phosphorsäure als solche die Resistenz steigert.

Die in der vorstehenden Tabelle 2 ebenfalls noch enthaltenen Versuche mit Ammoniumphosphat lassen keine wesentlichen Änderungen des Infektionstypus gegenüber den Kontrollpflanzen erkennen. Die Wirkung der Phosphorsäure wird hier offensichtlich durch den entgegengesetzt gerichteten Einfluß des gleichzeitig gebotenen Stickstoffs ausgeglichen.

V. Versuche mit Stickstoffverbindungen.

Um die Wirkung der Stickstoffgaben besonders klar hervortreten zu lassen, wurden zu den folgenden Versuchen in erster Linie Pflanzen benutzt, die in N-Mangelboden (Wasser 1000, $MgSO_4$ 0,25, $CaHPO_4$ 0,24, K_2SO_4 0,68, NaCl und $FeCl_3$ Spuren) herangezogen waren[1]. Daneben fanden auch Pflanzen Verwendung, die in Gartenerde, also unter normalen Bodenverhältnissen, heranwuchsen.

Die künstliche Stickstoffzufuhr durch Einhängen der Blätter in Lösungen von Stickstoffverbindungen bietet gegenüber gewöhnlichen Düngungsversuchen den Vorteil, daß nunmehr auch Stoffe wie Glykokoll und Asparagin in den Kreis der Untersuchungen einbezogen werden können. In erster Linie fanden wieder die verschiedenen Nitrate und Ammoniumsalze, sowie Harnstoff und Ammoniak Verwendung. Mangannitrat und Ammoniumbikarbonat erwiesen sich als ungeeignet; in Lösungen beider Salze wurden die Pflanzen sehr stark geschädigt. Die Mangan-

[1]) Bezüglich Einzelheiten vgl. Gaßner und Hassebrauk (8, S. 538).

nitratlösungen sind außerdem im Hinblick auf ihre schnelle Zersetzbarkeit nicht zu verwenden.

Die Versuche wurden sowohl mit mäßig resistenten wie mit hoch resistenten und anfälligen Sorten durchgeführt. Vertreter der ersten Gruppe ist vor allem v. Rümkers früher Sommerdickkopf (Infektionstypus III bei normalen Anzuchtbedingungen, bei N-Mangel Infektionstypus II—III). Als stark anfällige Sorte kam Strubes Dickkopf (Typus IV bzw. IV—III), als hoch resistente Sorten Aurore und Halland (Typus I—II bzw. I) zur Verwendung. In der folgenden Tabelle 3 sind zunächst einige mit Rümkers Sommerdickkopf durchgeführte Versuche wiedergegeben. Von der Anführung der übereinstimmenden Wiederholungsversuche ist auch hier wieder Abstand genommen.

Bei Pflanzen, die unter Stickstoffmangel herangezogen sind (linke Spalte von Tabelle 3), bewirken sämtliche in der nachstehenden Tabelle angeführten Stickstoffverbindungen eine Verschiebung des Infektionstypus nach der anfälligen Seite. Diese ist am stärksten bei den Ammoniumsalzen mit Ausnahme des Ammoniumphosphates und bei Glykokoll, nicht ganz so stark bei Calcium- und Magnesiumnitrat, sowie bei Asparagin, deutlich schwächer bei Kalium- und Natriumnitrat und vor allem bei Ammoniumphosphat. Bei Verwendung von Ammoniak wird die maximale Steigerung der Befallstärke offensichtlich dadurch nicht erreicht, daß im Hinblick auf sonst eintretende Schäden nur relativ geringe Stickstoffmengen geboten werden können.

Bei Anzucht des v. Rümkerschen Sommerdickkopfs in Gartenerde (rechte Spalte von Tabelle 3) zeigen die Kontrollpflanzen den Typus III, der durch alle Ammoniumsalze, ferner durch Ammoniaklösung, Asparagin und Glykokoll nach IV verschoben wird, wobei Ammoniumnitrat, Ammoniak und Glykokoll am eindeutigsten wirken. Die feineren Unterschiede kommen allerdings in der nachstehenden Tabelle nicht voll zum Ausdruck. Auch bei den meisten anderen Stickstoffverbindungen ist die Verschiebung des Infektionstypus nach der anfälligen Seite unverkennbar. Soweit bei stärkeren Konzentrationen ein geringerer Infektionstypus auftritt als bei mittleren und schwächeren, sind hierfür mit Ausnahme von Kalium- und Natriumnitrat offensichtlich die auch in Tabelle 3 erwähnten schwachen Schädigungserscheinungen verantwortlich zu machen. Bei stärkeren Lösungen von Ammoniumsalzen finden wir die beste Pustelbildung nach dem Blattgrunde zu, während spitzenwärts der Befall etwas abnimmt.

Eine besondere Besprechung erfordern die Versuche mit Kaliumnitrat und Natriumnitrat. Hier überschneiden sich offenbar die Wirkungen von Anion und Kation. Bei schwachen Gaben überwiegt das Anion, während bei stärkeren Konzentrationen die resistenzerhöhende Wirkung des Kations zutage tritt. Diese gegensinnige Wirkung von Kation und Anion geht noch klarer aus der in Abbildung 5 gegebenen graphischen Darstellung hervor,

Tabelle 3.

Verschiebung des Infektionstypus von *Puccinia triticina* durch Einhängen der geimpften Blätter in Lösungen von Stickstoffverbindungen.

Sorte:	von Rümkers früher Sommerdickkopf	
Anzucht in:	Quarzsand mit N-freier Nährlösung	Gartenerde
Rostbild der unbehandelten Kontrollpflanzen:	II—III [1]	III
Rostbild nach dem Einhängen in: H_2O	III	III(—IV)
1/16 mol KNO_3	III	II [1]
1/32 mol KNO_3		II—III [1]
1/64 mol KNO_3		III—IV
1/16 mol $NaNO_3$	III—(IV)	II—III
1/32 mol $NaNO_3$		III—II [1]
1/64 mol $NaNO_3$		III—IV
1/32 mol $Ca(NO_3)_2$	IV—III	fast IV [2]
1/64 mol $Ca(NO_3)_2$	IV - III	IV—III
1/128 mol $Ca(NO_3)_2$		IV
1/32 mol $Mg(NO_3)_2$	fast IV [3]	III—IV [3]
1/64 mol $Mg(NO_3)_2$	IV	
1/32 mol NH_4NO_3	IV	IV [4]
1/64 mol NH_4NO_3	IV	IV
1/128 mol NH_4NO_3		fast IV
1/16 mol NH_4Cl	IV	fast IV [2] [4]
1/32 mol NH_4Cl		IV
1/64 mol NH_4Cl		IV
1/32 mol $(NH_4)_2SO_4$	IV—(III)	fast IV [2] [4]
1/64 mol $(NH_4)_2SO_4$		IV
1/128 mol $(NH_4)_2SO_4$		IV
1/32 mol $(NH_4)_2HPO_4$	III—II	fast IV [2] [4]
1/64 mol $(NH_4)_2HPO_4$		IV—III
1/128 mol $(NH_4)_2HPO_4$		IV— III
1/64 mol $CO(NH_2)_2$	fast IV	III—IV
1/16 mol Glykokoll	IV	IV
1/32 mol Glykokoll		IV
1/64 mol Glykokoll		IV—III
1/48 mol Asparagin	III—IV	IV
1/96 mol Asparagin		fast IV
1/192 mol Asparagin		III—IV
8 gtte/1000 Liqu. Amm. caust.	III – II	IV

[1]) Starke Nekrosen.

[2]) Spitzenschäden der infizierten Blätter.

[3]) Nekrotische Pulverulenz.

[4]) Pustelbildung verzögert, Pusteln meist am Blattgrunde.

in welcher das Rostbild bei Einhängen in Lösungen von 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 und 3,5 ‰ KNO_3 bzw. $NaNO_3$ erfolgt war. Um einen unmittelbaren Vergleich zu ermöglichen, sind die angegebenen Konzentrationen auf molare Lösungen umgerechnet und als solche eingetragen.

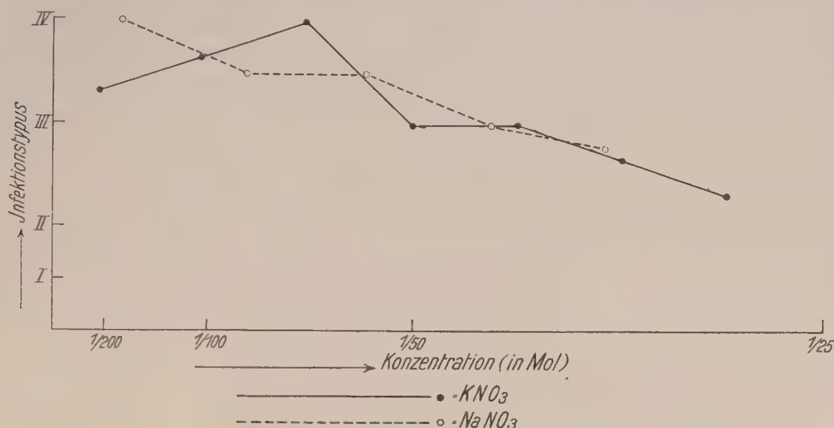


Abb. 5.

Infektionstypus von *Puccinia triticina* auf v. Rümkers Sommerdickkopf bei Eintauchen der Blätter in äquimolekulare KNO_3- und $NaNO_3$-Lösungen. (Anzucht der Versuchspflanzen in Gartenerde.)

Die Anzucht der Versuchspflanzen war auch hier wieder in Gartenerde erfolgt. Bei Natriumnitrat haben wir bei schwachen Lösungen eine gute Befallssteigerung und dann einen annähernd gleichmäßigen Abfall des Infektionstypus mit zunehmender Konzentration der Eintauchlösungen, bei Kaliumnitrat einen Anstieg bis zu 1,5 ‰ (etwa 1/67 mol) und von hier an deutlichen Abfall. Der vorstehende Versuch erscheint vor allem auch insoweit von Interesse, als er, wie die in einem früheren Abschnitt erwähnten Natriumchloridversuche, auf eine resistenzerhöhende Wirkung des Natriums hinweist.

Die Versuche mit den hoch resistenten Sorten Aurore und Halland wurden in gleicher Weise und in gleichem Umfange durchgeführt wie die in Tabelle 3 wiedergegebenen Versuche mit von Rümkers Sommerdickkopf. Wenn es auch nicht gelang, den meistens vorliegenden Infektionstypus I—II zahlenmäßig erfaßbar nach der anfälligen Seite zu verschieben, so konnte doch bei denjenigen Stoffen, welche auf das Rostbild von Rümkers Dickkopf besonders nachhaltig im Sinne einer Erhöhung der Anfälligkeit einwirkten, also insbesondere bei den Ammoniumsalzen, eine Verringerung der Nekrose, zum Teil auch eine gewisse Verstärkung des Pustelbefalls festgestellt werden. Die Befunde stimmen also grundsätzlich mit den an mäßig resistenten Sorten gewonnenen überein.

Die hochanfälligen Sorten vom Typus der Dickkopfweizen zeigten bei Anzucht in Gartenerde den Infektionstypus IV, in Stickstoffmangel-

böden eine schwache Verschiebung nach der resistenten Seite, also Infektionstypus IV—III. Zu den Versuchen wurden daher in erster Linie Pflanzen verwendet, die stickstoffrei herangezogen waren (vgl. S. 332).

Bei Einhängen der Blätter anfälliger Sorten in Stickstofflösungen ergab sich die stärkste Förderung der Anfälligkeit bei Ammoniumnitrat. In der Reihenfolge abnehmender Wirkung kommen dann Ammoniumsulfat, Ammoniumchlorid, Harnstoff, Glykokoll, Ammoniumphosphat, Magnesiumnitrat, Asparagin, Calciumnitrat, Kaliumnitrat, Natriumnitrat, wobei jedesmal das Rostbild in Lösungen gleichen Stickstoffgehaltes in Vergleich gesetzt ist; schwache Verschiebungen innerhalb der vorstehenden Reihenfolge sind möglich. In ihrer Gesamtheit stimmen die mit anfälligen Sorten erhaltenen Ergebnisse mit den weiter oben erwähnten Befunden an v. Rümkers frühem Sommerdickkopf überein. Ammoniumsalze und Glykokoll wirken wieder besonders gut, während Kaliumnitrat und Natriumnitrat bei den gewählten Konzentrationen an letzter Stelle stehen. Abweichend ist vor allem die Feststellung, daß Ammoniumphosphat hier ebenfalls eine auffallend gute Wirkung zeigt.

Bei den Versuchen mit hochanfälligen Sorten ergab sich ebenso wie bei den Versuchen mit mäßig resistenten Sorten eine Verlängerung der Fruktifikationszeit bei solchen Stickstoffverbindungen, die den Infektionstypus nach der anfälligen Seite verschieben. Die Verlängerung betrug bei gut wirkenden Stickstoffverbindungen unter Umständen mehrere Tage. Die Beobachtungen stehen im Einklang mit unseren früheren Feststellungen über die Beeinflussung der Fruktifikationszeit durch die Stickstoffernährung (vgl. 8, S. 553).

VI. Weitere Versuche mit Stickstoffverbindungen.

Alle im Vorstehenden erwähnten Versuche sind unter normalen Gewächshausbedingungen, also bei Temperaturen von etwa 20 °C und ausreichender Belichtung durchgeführt. In einigen weiteren Versuchsreihen wurde die Wirkung der verschiedenen Stickstoffverbindungen bei ungenügender Belichtung, also eingeschränkter Assimilationstätigkeit der Versuchspflanzen geprüft. Im übrigen blieb die Versuchsdurchführung gleich. Zur Charakterisierung der Lichtverhältnisse sei noch erwähnt, daß es sich um Versuche während des besonders dunklen Monats November des Jahres 1931 handelt.

In Übereinstimmung mit früheren Erfahrungen (vgl. Gaßner und Appel, 7) hatten die unzureichenden Beleuchtungsverhältnisse eine allgemeine Verschlechterung des Rostbefalles und vor allem eine Verlängerung der Inkubations- und Fruktifikationsdauer zur Folge. Gleichzeitig ergab sich eine deutliche Änderung des Wirkungsgrades der untersuchten N-Verbindungen. Während unter normalen Beleuchtungsverhältnissen stärkere Lösungen der Ammoniumsalze den Infektionstypus besonders deut-

lich nach der anfälligen Seite verschieben und so die Nitrate übertreffen (vgl. S. 333), ist in den Versuchen mit unzureichender Belichtung das Umgekehrte zu beobachten: Stärkere und nach den früheren Feststellungen zu maximalem Pustelausbruch führende Lösungen von Ammoniumsalzen (1/64 mol NH_4NO_3, 1/32 mol NH_4Cl, 1/64 mol $(NH_4)_2SO_4$) lassen bei schlechten Beleuchtungsverhältnissen nur noch auf einer beschränkten Zone des Blattgrundes der behandelten Blätter Pusteln hervortreten; sie wirken daher weniger gut als Nitratlösungen gleichen N-Gehaltes ($Mg(NO_3)_2$, $Ca(NO_3)_2$, $NaNO_3$), bei denen es zu einer gleichmäßigen, über die ganze Blattfläche verteilten Pustelbildung kommt. In gleicher Weise wie durch Nitrate wird der Rostbefall durch Glykokoll und Asparagin gefördert; vor allem in stärkeren Lösungen zeigen sich diese Stoffe den Ammoniumsalzen nunmehr ebenfalls überlegen.

In Ergänzung der vorstehenden Versuche über die Wirkung der verschiedenen N-Verbindungen bei unzureichender Assimilationstätigkeit der infizierten Blätter wurden einige weitere Versuchsreihen durchgeführt, in denen der Einfluß des Ammoniumnitrates als besonders wirksamer N-Quelle bei gleichzeitiger Verbesserung der C-Ernährung der Pflanze durch künstliche Zufuhr von Zucker einer Prüfung unterzogen wurde. Zu diesem Zweck wurden die Blätter der Versuchspflanzen in Lösungen getaucht, die gleichzeitig Ammoniumnitrat und Glukose enthielten. Die Blätter der Vergleichspflanzen wurden in entsprechender Weise mit reinen Ammoniumnitrat- sowie mit reinen Glukoselösungen behandelt. Zur Verwendung kamen die folgenden Konzentrationen und Kombinationen:

1 a—e:	Glukose:	0 ‰	+ Ammoniumnitrat:	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0 ‰
2 a—e:	„	5 „	„	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0 „
3 a—e:	„	10 „	„	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0 „
4 a—e:	„	15 „	„	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0 „

Versuchssorten waren die gegen den benutzten Stamm von *Puccinia triticina* mäßig resistenten Sorten v. Rümkers früher Sommerdickkopf und Roter Tiroler Spelz. Die Anzucht der Versuchspflanzen war in Gartenerde erfolgt; Versuchsbeginn war der 13. Juni 1931. Das Eintauchen der Blätter wurde wieder in der 3. bis 6. Nacht nach der Impfung vorgenommen.

Die Versuchsergebnisse sind folgende:

1. Unbehandelte Kontrollpflanzen und Pflanzen, deren Blätter in reines Wasser tauchten, zeigen Infektionstypus III.
2. Die alleinige Zufuhr von Glukose in Lösungen von 5 bis 10 ‰ bewirkt keine eindeutige Veränderung des allgemeinen Infektionsbildes; nur bei 5 ‰ Glukose läßt sich eine schwache Verbesserung des Pustelausbruches feststellen, ohne daß es jedoch zu einer Erhöhung des Infektionstypus kommt.
3. Die alleinige Zufuhr von Ammoniumnitrat verschiebt den Infektionstypus von III nach IV; optimal wirken Konzentrationen von 0,5 und 1 ‰, während stärkere Konzentrationen weniger

günstig sind, da es hier im allgemeinen nur zu einer Pustelbildung am Blattgrunde kommt.

4. Die kombinierte Anwendung von Glukose und Ammoniumnitrat bewirkt ebenfalls eine Verschiebung des Infektionstypus von III nach IV, dabei gleichzeitig eine im Zahlenwert des Infektionstypus nicht erfaßbare, in der verstärkten Pustelbildung zum Ausdruck kommende außerordentliche Steigerung des Befalles. Die Sporen werden bei geeigneter Kombination von Glukose und Ammoniumnitrat (10 ‰ Glukose + 2 ‰ NH_4NO_3, 15 ‰ Glukose + 1 bis 1,5 ‰ NH_4NO_3) nunmehr in derartigen Mengen gebildet, daß die Uredolager auf den Blättern zu dicken traubigen Massen verschmelzen.

Maximaler Rostbefall wird also durch gleichzeitige Darbietung geeigneter C- und N-Quellen erzielt. Die Versuche zeigen weiter, daß der Wirkungsgrad der Ammoniumnitratlösungen von der Anwesenheit ausreichender Kohlehydratmengen abhängt; bei alleiniger Zufuhr von NH_4NO_3 sind Konzentrationen von 0,5—1 ‰, bei gleichzeitiger Darbietung von Zucker solche von 1—2 ‰ NH_4NO_3 optimal. Bei guter C-Versorgung werden also größere Mengen von Ammoniumnitrat verarbeitet und vertragen als bei C-Mangel.

Diese Feststellung steht mit den Ergebnissen der vorher erwähnten Versuche bei unzureichenden Assimilationsverhältnissen in Einklang: wenn wir unter diesen Bedingungen eine schlechtere Wirkung der Ammoniumsalze gegenüber Nitraten und anderen N-Quellen, also eine besonders tiefe Lage der optimalen NH_3-Konzentrationen beobachten konnten, so hängt dies offensichtlich mit dem hier vorliegenden Mangel an Kohlehydraten zusammen. Auf den inneren Zusammenhang zwischen C-Ernährung und N-Zufuhr wird in einem späteren Abschnitt noch kurz einzugehen sein.

VII. Versuche mit abgeänderter Methodik.

In allen bisher beschriebenen Versuchen wurde das Eintauchen der Blätter in der dritten bis sechsten Nacht nach vorgenommener Impfung durchgeführt. Im folgenden ist noch die Frage geprüft, welchen Einfluß die entsprechende Behandlung der Blätter ausübt, wenn sie vor der Impfung zur Anwendung kommt. Um die Aufnahme der Salze und die Benetzungsfähigkeit der Blätter zu verbessern, wurden diese vor dem Eintauchen durch Abreiben zwischen nassen Fingern ihrer Wachsschicht beraubt; bei den Versuchen der früheren Abschnitte war die Entfernung der Wachsschicht gleichzeitig mit der Impfung erfolgt, da das Sporenmaterial mittels feuchten Wattepinsels aufgetragen wurde.

Im einzelnen gestaltete sich die Versuchsdurchführung so, daß die Blätter 4 Nächte vor der Impfung in die Versuchslösungen getaucht wurden: nach dem Aufbringen der Sporen standen die Pflanzen dann zwei Tage

unter Glocken und von da ab ohne weitere Behandlung frei im Gewächshaus. Zur Verwendung kamen die gleichen Weizensorten und Lösungen wie in den Versuchen der Abschnitte III—V.

Im Gegensatz zu der auffallenden Beeinflussung des Rostbildes bei den nach vorgenommener Impfung eingehängten Blättern bewirkte die gleiche Behandlung vor der Infektion entweder gar keine oder eine nur schwache Verschiebung des Rostbefalles. Die Lösungen von Kali- und Phosphorsäuresalzen vermochten den Infektionstypus überhaupt nicht zu beeinflussen, wenn sie vor der Impfung zur Anwendung kamen. Nur das Einhängen in bestimmte stickstoffhaltige Lösungen bewirkte eine, im Vergleich mit den früheren Feststellungen jedoch stets nur geringe Befallssteigerung. Hier liegt also eine Nachwirkung der vor der Impfung durchgeführten Behandlung vor, die allerdings nur bei den Ammoniumsalzen, Glykokoll und Asparagin festzustellen war. Das vor der Impfung vorgenommene Eintauchen in Lösungen von Harnstoff und sämtlichen Nitraten (mit Ausnahme von Ammoniumnitrat) ließ keine spätere Beeinflussung des Rostbildes erkennen.

Auf Grund der vorstehenden Versuche können wir also sagen, daß es darauf ankommt, den Ernährungszustand der Blätter während der Inkubationszeit zu beeinflussen, wogegen eine frühere Behandlung sich entweder garnicht oder nur in unbedeutendem Maße äußert.

VIII. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Es ist weiter oben bereits darauf hingewiesen, daß die durch Einhängen der Blätter in Salzlösungen erzielten Verschiebungen der Rostresistenz in gleicher Richtung liegen wie die Änderungen des Rostbildes in den früher durchgeführten Düngungsversuchen (Gaßner und Hassebrauk, 8), nur daß die beobachteten Unterschiede noch deutlicher und schärfer hervortreten.

Auf die Frage, in welcher Weise wir uns den verschiedenartigen Einfluß der einzelnen Nährstoffe, also die resistenzerhöhende Wirkung von Kali und Phosphorsäure, und die Steigerung des Befallsgrades durch Stickstoff vorstellen können, sind wir in unserer früheren Mitteilung ausführlich eingegangen (Gaßner und Hassebrauk, [8], S. 600 ff.). Eine nochmalige Darlegung erscheint daher an dieser Stelle nicht erforderlich; nur bezüglich des Zusammenwirkens von Stickstoffernährung und Assimilation seien einige ergänzende Bemerkungen gebracht.

Der Kernpunkt des Resistenzproblems liegt, wie wir in unserer mehrfach erwähnten früheren Veröffentlichung dargelegt haben, in der Frage der Beeinflussung des Eiweißstoffhaushaltes der Nährpflanze. Alle Umstände und Bedingungen, welche den Eiweißgehalt der Blätter steigern, haben auch eine Erhöhung der Anfälligkeit zur Folge. Aus diesem Grunde zeigt sich starker Rostbefall an eine reichliche Stickstoffernährung und

eine gleichzeitig vorliegende gute Assimilationstätigkeit gebunden; nur in diesem Falle erreicht der Eiweißgehalt der Blätter maximale Werte (Mothes, 19; vgl. auch die in diesem Zusammenhang in unserer früheren Veröffentlichung (8) zitierten Arbeiten sowie die neueren Untersuchungen von Björkstén, 1, und Flieg, 5).

Da nach unseren heutigen Kenntnissen die Eiweißsynthese über Ammoniak verläuft, erscheint die in den Versuchen der vorstehenden Arbeit erneut bestätigte Feststellung von der besonders starken anfälligkeitssteigernden Wirkung der Ammoniumsalze ohne weiteres verständlich. Eine geradezu anormale Erhöhung des Rostbefalles wurde in denjenigen Fällen beobachtet, in denen bei gleichzeitiger Darbietung von Ammoniumnitrat Glukose als C-Quelle gegeben und so die normale Assimilationstätigkeit der Blätter künstlich unterstützt wurde. Anderseits zeigten Versuche unter unzureichenden Belichtungsverhältnissen und dementsprechend eintretendem Kohlehydratmangel, daß die rostfördernde Wirkung der Ammoniumsalze sich nunmehr weit schwächer äußert oder sogar fortfällt: unter diesen Bedingungen können die zur Verfügung stehenden Ammoniakmengen nicht mehr synthetisch verarbeitet werden, so daß es zu einer auf den Rostbefall ungünstig einwirkenden Anhäufung von Ammoniak kommt. Bei Darbietung von Nitraten als N-Quelle besteht diese Gefahr nicht, wodurch sich die Tatsache erklärt, daß Nitrate bei schlechten Assimilationsbedingungen den Rostbefall relativ stärker steigern als Ammoniumsalze. Auch die Überlegenheit des Asparagins unter den eben erwähnten Verhältnissen ist ohne weiteres verständlich; Asparagin wird bei Kohlehydratmangel gespeichert und nur im Verhältnis zu den verfügbaren Kohlehydraten in den Stoffwechsel einbezogen. Glykokoll wirkt auch bei schlechten Assimilationsbedingungen verhältnismäßig rostfördernd; soweit es als Aminosäure nicht direkt zur Eiweißsynthese verwandt wird, müssen wir mit einem Abbau über Asparagin und damit mit dem Eintreten ähnlicher Verhältnisse rechnen wie bei Darbietung von Asparagin selbst.

So unterstreichen und ergänzen die in den vorstehenden Abschnitten dargelegten Versuchsergebnisse in mehrfacher Hinsicht unsere früheren Erklärungsversuche über das Zustandekommen von Resistenzverschiebungen durch Änderung der Ernährungsbedingungen der infizierten Pflanzen und Pflanzenteile. Die Anwendung der hier beschriebenen Einhängemethode bietet den nicht zu unterschätzenden Vorteil, die zu prüfenden Stoffe unverändert, unmittelbarer und darum nachdrücklicher dem Stoffwechsel der Blätter zuzuführen; sie gestattet daher, den Einfluß der Nährsalze und anderer Stoffe weit schärfer und einwandfreier zu erfassen, als dies in gewöhnlichen Düngungsversuchen der Fall ist.

Unter natürlichen Verhältnissen kommt eine Nährsalzaufnahme durch die Blätter nur für den Fall der Kopfdüngung in Frage. Die in der vorstehenden Arbeit gewonnenen Ergebnisse lassen es nicht ausgeschlossen

erscheinen, daß die als besonders stark rostfördernd bekannte Wirkung der Stickstoffkopfdüngung zum Teil mit einer unmittelbaren Aufnahme der N-Salze durch die oberirdischen Pflanzenteile in Zusammenhang steht.

Schließlich sei noch auf die Möglichkeit hingewiesen, daß lang anhaltende Regenfälle den Nährsalzgehalt der Blätter bis zu einem gewissen Grade vermindern und so ebenfalls das Rostbild zu beeinflussen vermögen. Diese Annahme wird durch die weiter oben (S. 328) erwähnte Beobachtung gestützt, daß Einhängen der Versuchspflanzen in reines Wasser unter Umständen typische Kalimangelerscheinungen hervorrufen kann, die sich nur durch ein Auslaugen der Nährsalze bei längerer Berührung der Blätter mit Wasser erklären lassen.

IX. Zusammenfassung.

1. Die Wirkung von Nährsalzen und einigen anderen Stoffen auf die Anfälligkeit von Weizenpflanzen gegen *Puccinia triticina* ist in den vorstehenden Untersuchungen in der Weise geprüft, daß die Blätter nach der Impfung 3 bis 4 Nächte in Lösungen der betreffenden Stoffe eingehängt wurden.
2. Die Ergebnisse stimmen grundsätzlich mit unseren früheren, in Bodendüngungsversuchen erhaltenen Befunden überein, jedoch ist die Änderung des Rostbildes bei den „Einhängeversuchen“ wesentlich deutlicher.
3. Kali und Phosphorsäure bewirken starke Verschiebungen des Infektionstypus nach der resistenten Seite. Stickstoffsalze und andere Stickstoffverbindungen (Asparagin, Glykokoll, Harnstoff) steigern die Anfälligkeit. Die Wirkung der N-Verbindungen hängt absolut und relativ in hohem Maße von der jeweiligen Kohlenstoffversorgung der Versuchspflanzen ab.

X. Schriftenverzeichnis.

1 Björkstén, J., Zur Kenntnis der Synthese von Eiweißstoffen und ihrer Bausteine bei höheren Pflanzen. Biochem. Zeitschrift, 1930, S. 1—80.

2 Boehm, J., Über die Aufnahme von Wasser und Kalksalzen durch die Blätter der Feuerbohne. Landw. Versuchsstationen, 1877, **20**, S. 51—59.

3 Boussingault, Agronomie, 1878, **6**, S. 364 (nach Fr. Czapek, Biochemie der Pflanze, 3. Aufl., Jena 1925, Bd. II).

4 Domontovic, M. und Zeleznow, Versuche über die Ernährung von Pflanzen mit Kalium und Mg-Salzen durch die Blätter. Naucno agronom. Z., 1930, **7**, 134—143. Russisch mit deutscher Zusammenfassung. (Referat in: Ber. über d. wiss. Biologie, 1930, S. 452).

5 Flieg, O., Der Einfluß von N-Aufnahme und Lichtmangel auf den Zuckerspiegel im grünen Blatt und die Bedeutung dieser Beziehung für Fütterung und Silage. Archiv für Pflanzenbau, A., 1932, **8**, S. 335.

6 Frank, B. und Krüger, F., Über den direkten Einfluß der Kupfervitriol-Kalk-Brühe auf die Kartoffelpflanze. Arb. d. DLG., Heft 2, 1894, S. 1—47.

7 Gaßner, G. und Appel, G. O., Untersuchungen über die Infektionsbedingungen der Getreiderostpilze. Arb. a. d. Biol. Reichsanst., 1927, **XV**, Heft 3, S. 417—436.

8 Gaßner, G., und Hassebrauk, K., Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Mineralsalzernährung und Verhalten der Getreidepflanzen gegen Rost. Phytopath. Zeitschrift, 1931, **3**, S. 535—608.

9 Gris, A., Ann. d. sc. nat., 1857, IV. sér., Tom. 7, p. 201. (Nach Mayer, A. [18]).

10 Hiltner, E., Reizdüngung, Reizbeizung und Reizbespritzung und die Abhängigkeit ihrer Wirkung vom Gesundheitszustand der Pflanze. Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz, 1924, **II**, S. 197 und 222.

11 Hiltner, E. und Bergold, M., Jodanreicherung von Pflanzen durch Düngung und Bespritzung und Kropfproblem. Ebenda, 1926, **III**, S. 249.

12 Hiltner, E. und Kronberger, M., Über die Zuführung von Nähr- und Heilstoffen durch die Blätter. Ernährung der Pflanze, 1924, **XX**, S. 65 und 73.

13 Hiltner, L., Über die Beeinflussung des Wachstums der Pflanzen durch deren Bespritzen oder Bestäubung mit giftigen oder düngenden Stoffen. Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz, 1909, **VII**, S. 17—22; 29—33; 65—69.

14 Hiltner, L., Über eine neue Verwendungsmöglichkeit für Kalisalze und andere düngende Stoffe. Mitteil. der DLG., 1911, **26**, S. 231.

15 Hiltner, L., Über die Ernährung der Pflanzen mit mineralischen Stoffen durch die Blätter. Praktische Blätter für Pflanzenbau und Pflanzenschutz, 1912, **X**, S. 6.

16 Hiltner, L., Über den Einfluß der Ernährung und der Witterung auf das Auftreten pilzlicher und tierischer Pflanzenschädlinge. Jahrb. d. DLG. 1912, **27**, S. 156.

17 Kerpely, C., Die Düngung des Tabaks durch Bespritzen der Blätter mit Kalisalzlösungen. Köztelek III, 99, S. 3330, Budapest 1913. (Referat im Botanischen Centralblatt, 1914, **126**, S. 639).

18 Mayer, A., Über die Aufnahme von Ammoniak durch oberirdische Pflanzenteile. Deutsche Landw. Jahrbücher, 1874, **17**, S. 329.

19 Mothes, K., Ein Beitrag zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. Planta, 1926, **1**, S. 472.

20 Nerger, C, In welcher Weise bereichern die Blattpflanzen den Boden mit Stickstoff? Deutsche Landw. Presse, 1886, **13**, S. 256.

21 Seiden, R., Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß verschiedener äußerer Faktoren, insbesondere auf den Aschengehalt in den Pflanzen. Landw. Versuchstationen, 1926, **104**, S. 1—50.

Aus dem Institut für spezielle Botanik
der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich.
Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann.

—

Der Einfluß der Infektion auf die Temperatur und die Kohlensäureabgabe bei Kartoffeln.

Von
Max Eglits, Riga, Lettland.

Mit 34 Textabbildungen.

1. Einleitung.

Die Temperaturveränderungen bei infizierten Pflanzen sind in der Literatur noch wenig behandelt. Fischer und Gäumann, 1929, S. 356 und 357, nennen die Arbeit Evans als den einzigen Beleg für das Auftreten von Fieberzuständen bei erkrankten Pflanzen. I. B. P. und M. P. Evans, 1922, S. 480—481, berichten über wesentliche Temperatursteigerungen bei von *Penicillium digitatum* befallenen Orangen. Der Fieberzustand sei nur bei lebenden Geweben eingetreten. In Vorbehalt einer ausführlicheren Abhandlung verzichtet Evans auf die zahlenmäßige Angabe der Temperaturmessungen. Die Beobachtungen sind mit Quecksilberthermometern durchgeführt worden. Ein weiterer Bericht über die Beobachtungen Evans ist leider aus der Literatur nicht zu entnehmen. Auch Fr. Tobler, 1931, S. 414, erwähnt Temperaturerhöhungen, die unter Einfluß von Giftwirkung eines Parasiten, in Blättern beobachtet seien.

Ausführlicher ist das Wundfieber der Pflanzen behandelt. Abgesehen von den älteren Autoren, sei hier auf die Arbeit H. Thiessens, 1912, S. 53—106, hingewiesen, die ein eingehendes Studium über das Auftreten von Wundfieber bei Kartoffeln, Möhren und Äpfeln umfaßt.

Über die Atmung verletzter oder von parasitischen Pilzen befallener Pflanzen liegen mehrere Beobachtungen vor. Fischer und Gäumann, 1929, S. 354—356, bieten eine kurze Zusammenfassung über diese Arbeiten. Es sei beobachtet, daß von Endoparasiten befallene Pflanzen wesentlich größere Kohlensäuremengen ausscheiden, als die gesunden. Diese Erscheinung könne auch durch Fernwirkung hervorgerufen werden. Die Ektoparasiten hätten in den beobachteten Fällen Hemmung der Respiration in den kranken Geweben verursacht.

Auf Veranlassung von Herrn Prof. Dr. E. Gäumann habe ich, unter seiner Leitung, im Sommersemester 1930, mit den Temperaturmessungen bei kranken Pflanzen begonnen. Infolge meiner Dienstverhältnisse konnte das Thema nicht ohne Unterbrechung bearbeitet werden, da ich, zur Aus-

übung meiner Dienstpflichten an der Lettländischen Universität, die Wintersemester in der Heimat verbringen mußte. Auch die methodischen Studien nahmen viel Zeit in Anspruch. Erst im Sommersemester 1932 konnte die Arbeit in Zürich zum Abschluß gebracht werden. Ich benutze die angenehme Gelegenheit, Herrn Prof. Dr. E. Gäumann meinen ergebensten Dank für die lebhafte Teilnahme und das große Entgegenkommen bei der Durchführung meiner Arbeit hier nochmals darzubringen. Es sei hier auch den Herren Prof. Dr. P. Scherrer, Dr. M. Furter, Dr. O. Jaag, Obergärtner O. Riethmann und Laboranten O. Schibli, die mich während meiner Arbeit mit wertvollen Ratschlägen oder behilflicher Tat freundlichst unterstützten, bestens gedankt. Zuletzt noch meinen ergebensten Dank der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich und der Lettländischen Universität in Riga für die mir gebotene Arbeitsmöglichkeit und materielle Hilfe.

Die Fragestellung zur Durchführung meiner Arbeit läßt sich auf folgende zwei Punkte zusammenfassen:

1. Gibt es Temperaturveränderungen bei erkrankten Pflanzen?
2. Stehen diese mit der Kohlensäureabgabe in Zusammenhang?

2. Apparatur und Arbeitsmethode.

Die Versuche wurden im Raum mit konstanter Temperatur im Erdgeschosse des neuen Versuchshauses durchgeführt. Der Versuchsraum. Abb. 1, bestand aus zwei Dunkelzimmern, deren Temperatur durch elektrische Heizung mit automatischer Schaltvorrichtung auf 20° C konstant gehalten werden konnte. Die Heizkörper bestanden aus Widerstandsdrähten, denen noch Widerstandsbrücken vorgeschaltet waren, um die Erwärmung der Heizkörper entsprechend den Bedürfnissen regulieren zu können. Kleine Temperaturschwankungen, die gewöhnlich 0,2—0,4° C nicht überschritten, konnten nicht ganz vermieden werden. Diese hatten aber auf die Ergebnisse keinen wesentlichen Einfluß, da die Versuchsobjekte und die Apparatur noch besonders, vor Temperaturschwankungen geschützt, untergebracht waren. Ein Ventilator, der im Schaltzimmer aufgestellt war und für die Zirkulation der Luft in den beiden Räumen sorgte, half wesentlich, die Konstanz der Temperatur zu erhalten.

Die Temperaturmessungen wurden in der Weise durchgeführt, daß man die Temperaturveränderungen in den erkrankten Geweben auf die Temperatur der gesunden Gewebe, als auf den Nullpunkt, bezog. Für die Messungen wurde ein Drehspulspiegelgalvanometer mit Vorsatzlinse der Firma Hartmann & Braun, Frankfurt a. M., mit wagerechter, lichtstarker Ablesevorrichtung, bestehend aus 6 Volt Ableselampe, Skalenhalter auf hufeisenförmigem Fuß, Cellonskala und Kleintransformator für 220/6 Volt gewählt. Die Stromempfindlichkeit des Galvanometers betrug 130×10^{-10} Ampère je 1 mm der Skalateilung in Entfernung von 1 m. Um das Gal-

vanometer vor Feuchtigkeit zu schützen, da die Versuche im Erdgeschoß ausgeführt wurden, mußte es in einem dicht verschließbaren Eternitkasten, welcher vorne mit Glasfenster versehen war, untergebracht werden. Die eine Seite des Kastens war abnehmbar und zum dichten Abschluß mit Gummistreifen versehen. Mit Flügelschrauben konnte der Deckel dicht an den Kasten geschraubt werden. Von innen und außen war der Kasten

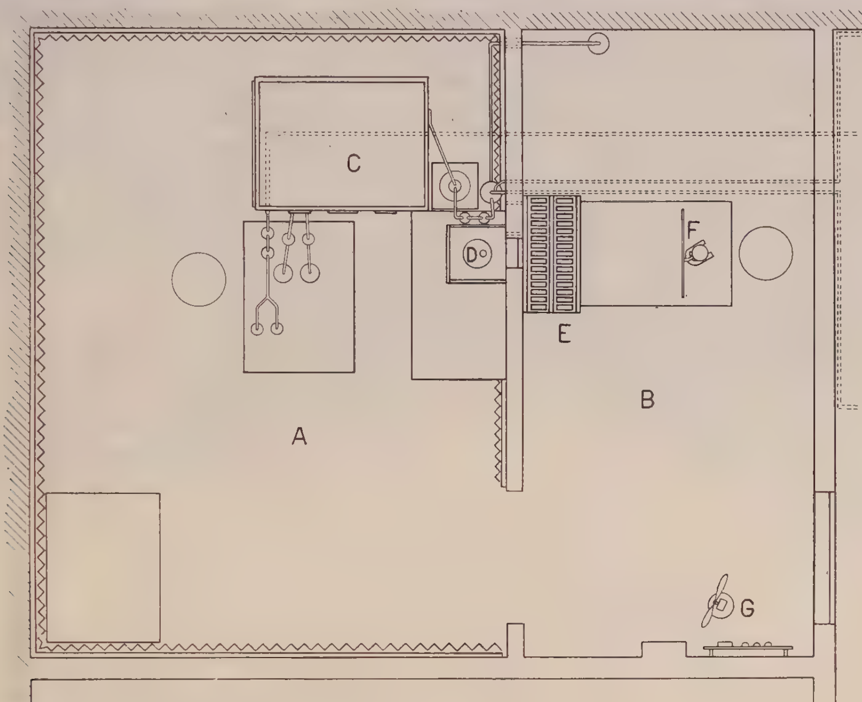


Abb. 1.
Grundriß des Versuchsraumes. **A** Versuchszimmer, **B** Schaltzimmer, **C** Versuchskasten, **D** Galvanometer, **E** Quecksilberschaltröhren, **F** Skala mit Ableselampe, **G** Ventilator.

mehrere Male mit Asphaltlack bestrichen. Der Kasten und das Galvanometer waren auf einem massiven, erschütterungsfreien Steintisch montiert. Die Bohrungen für die Durchleitung der Thermoelemente wurden mit Schiffskitt dicht verschlossen. Um die Luft im Kasten dauernd trocken zu erhalten, mußten mehrere Glasschalen mit Chlorkalzium in den Kasten gestellt werden. Die Cellonskala war im Brennpunkte der Vorsatzlinse des Galvanometers eingestellt. Vermöge der Beleuchtungsvorrichtung und eines Planspiegels an der Galvanometerspule wurde auf der Skala ein lichtes rundes Feld mit einem dünnen dunklen Strich reflektiert. Die Ablesungen wurden mit einer Lupe, mit Genauigkeit bis 1/10 der Skalateilung durchgeführt.

Die Thermoelemente bestanden aus umsponnenen Kupfer- und Konstantandrähten mit zwei Lötstellen. Der Durchmesser des Kupferdrahtes

betrug meist 0,2 mm, der des Konstantandrahtes 0,3 mm. Der Widerstand in den Leitungen der Thermoelemente war annähernd 3 Ohm, was ungefähr dem inneren Widerstand des Galvanometers entsprach. Um die Leitungen der Thermoelemente vor störenden Einflüssen der Feuchtigkeit zu schützen, wurden die Drähte durch siedendes Bienenwachs gezogen und darauf mit Schellack bestrichen. Die Lötstellen bestrich man mit stark verdünntem Schellack, was von Zeit zu Zeit wiederholt werden mußte.

Um zu gleicher Zeit mit mehreren Versuchsobjekten und Thermoelementen arbeiten zu können, mußten die Thermoelemente mit Schaltvorrichtungen versehen werden. Man benutzte zweierlei Schaltapparate: einen Kupferschalter oder mehrere Quecksilberschaltröhren.

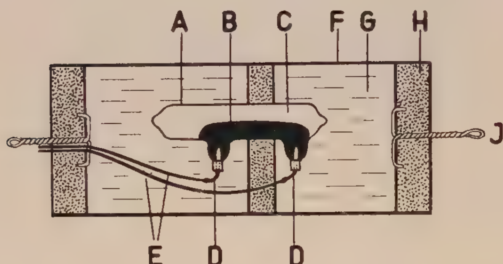


Abb. 2.
Quecksilberschaltröhre. Hälfte natürlicher Größe.
A Quecksilberschaltröhre. **B** Quecksilber. **C** Wasserstoff. **D** Kupferdraht. **E** Leitung des Thermoelementes. **F** Glasrohr. **G** Paraffin **H** Kork. **I** Drahtöse zum Anhängen der Röhre.

Der Kupferschalter bestand aus zehn auf einer Ebonitplatte im Kreise angeordneten kupfernen Kontaktknöpfen. Unterhalb der Kontaktknöpfe befand sich ein radiärer Kupferhebel, welcher beim Drehen der Reihe nach die einzelnen Meßpunkte mit dem Galvanometer verband. Die Kontaktvorrichtung mit der Ebonitplatte befand sich in einem dicht verschlossenen Furnierkästchen, über dessen Deckel sich eine mit Zeiger versehene Drehscheibe befand. Entsprechend der Lage der Kontaktknöpfe war der Deckel des Kästchens mit einem Zifferblatt versehen, welches die Nummern der Thermoelemente anzeigte. Da der Schalter immer Kupfer mit Kupfer verband, war seine positive Eigenschaft, daß er bei Temperaturschwankungen im Schaltzimmer nicht als „Thermoelement" wirkte. Er gab aber nicht immer genügenden Kontakt infolge Erschlaffung der Feder, die den radiären Hebel an die Kontaktknöpfe drückte. Diese Feder war am unteren Ende der senkrechten Achse des radiären Hebels angebracht. Um diesen Defekt zu vermeiden, benutzte man bei vielen Messungen statt des Kupferschalters Quecksilberschaltröhren (Abb. 2). Die Länge der Röhren A betrug 40 mm, der Durchmesser 4 mm. Die Röhren enthielten chemisch reines Quecksilber B in Wasserstoffatmosphäre C. Seitlich, an jedem Ende der Röhre, war je ein Kupferdraht D eingeschmolzen, dessen Ende aus der Röhre herausragte. An diesen wurden die Kupferleitungen E des entsprechenden Thermoelementes gelötet. In wagerechter Stellung gab die Röhre Kontakt mit dem Galvanometer, bei senkrechter

Stellung war das betreffende Element ausgeschaltet. Bei gewissen Temperaturschwankungen im Schaltzimmer wirkten die Quecksilberschaltröhren als schwache Thermoelemente. Um diese Störungen zu beseitigen, wurden die Röhren in Glaszylinder F gestellt und in Paraffin G eingebettet. Die Länge der Zylinder betrug 10, der Durchmesser 4 cm. Die Schaltröhren waren auf ein passendes Gestell montiert.

Um die Nullpunktverlagerungen des Galvanometers zu vermeiden, was bei andauernden, starken einseitigen Ausschlägen hätte einsetzen können, wurde das Galvanometer in den Zeitspannen zwischen den Messungen immer stromfrei gehalten.

Die Empfindlichkeit der Thermoelemente mußte empirisch geeicht werden. Die Eichungen wurden folgendermaßen durchgeführt. Man füllte zwei dickwandige Vegetationsgefäße aus Steingut von 6 l Inhalt mit Wasser. Die Temperatur des Wassers wurde annähernd auf 20° C eingestellt. Darauf stellte man in das eine Gefäß zwei Beckmann-Thermometer mit Meßbereich von 5° C und Hundertstelgradteilungen der Skala. Die Quecksilbersäulen der Thermometer wurden so eingestellt, daß sie bei 20° C annähernd dem Nullpunkte der Skala entsprachen. Darauf wurden bei stufenweiser Steigerung der Temperatur des Wassers an beiden Thermometern 20—40 Ablesungen gemacht und die Niveaudifferenzen der Quecksilbersäulen festgestellt. Vor jeder Ablesung an beiden Thermometern mischte man das Wasser gründlich mit einem Stabe. Die Tausendstelgrade wurden mit der Lupe geschätzt. Angenommen, daß bei einer gewissen Einstellung Beckmann-Thermometer Nr. 1 bei gleichen Temperaturverhältnissen durchschnittlich um 0,228° C niedrigere Werte angab als Beckmann Nr. 2. Bei den Auswertungen der Messungen mußten in dem Falle zu den Werten des Beckmann Nr. 1 0,028° C addiert werden, um die richtigen Werte zu erhalten. Danach stellte man jedes Beckmann-Thermometer in sein Gefäß und eichte die Thermoelemente. Zu Beginn der Eichung tauchte man beide Lötstellen des Thermoelementes in das Wasser des einen Gefäßes, rührte das Wasser gründlich um und prüfte die Ruhelage des Galvanometers. Darauf versetzte man jede Lötstelle in ihr Gefäß. Die Temperaturen des Wassers in beiden Gefäßen wurden durch Hinzufügen einiger Tropfen heißen Wassers aus einer Pipette, stufenweise gesteigert. Vor jeder Ablesung mischte man das Wasser zu gleicher Zeit in beiden Gefäßen. Nach einigen Sekunden konnte der Ausschlag des Galvanometers an der Skala abgelesen werden. Die Zehntel der Skalateilungen wurden mit der Lupe geschätzt. Gleich darauf machte man die Ablesungen an den Beckmann-Thermometern. Die Tausendstelgrade schätzte man mit der Lupe. Die Ablesungen an den Beckmann-Thermometern machte man immer bei ansteigender Quecksilbersäule. Bei jeder Eichung wurden stets zehn Ablesungen gemacht, mit fünf Ausschlägen nach rechts und fünf nach links.

Ein Beispiel soll die Berechnung der Empfindlichkeit der Thermoelemente erläutern.

Nullpunkt des Galvanometers 300 mm.

Ablesung von der Skala 379,2 mm.

Ausschlag des Galvanometers = 79,2 mm.

Beckmann Nr. 1, 0,816° + 0,228° Niveaudifferenz = 1,044° C.

Beckmann Nr. 2, 0,929° C.

Temperaturdifferenzen des Wassers = 0,115° C.

Empfindlichkeit des Thermoelementes = 0,115° : 79,2 = 0,00145° C je 1 mm der Skalateilung.

Der Mittelwert zehn solcher Bestimmungen ergab die Empfindlichkeit des Thermoelementes.

Nach beendeter Eichung versah man die Pole der Thermoelemente mit + und — Zeichen. Als + Pol bezeichnete man die Lötstelle, welche bei gesteigerter Temperatur den Ausschlag nach rechts gab, als — Pol die, welche den Ausschlag nach links erzeugte. Um Fehler zu vermeiden, wurden bei allen Messungen die + Pole immer an den Infektionsstellen oder an die infizierten Hälften der Versuchsobjekte angebracht, die — Pole dagegen kamen in die gesunden Gewebe oder die sterilen Hälften der Objekte.

Bei den Temperaturmessungen galt es, die Versuchsobjekte in solche Verhältnisse zu versetzen, bei welchen die Transpiration ausgeschaltet war. Sonst könnten eventuelle Temperatursteigerungen durch erhöhte Transpiration ausgeglichen werden. Dieses erzielte man durch Wassersättigung der Luft. Man stellte die Versuchsobjekte in einen dicht verschließbaren Kasten. Die Innenmaße des Kastens betrugen 100 cm Länge, 75 cm Breite und 100 cm Höhe. Die Innenwände des Kastens bestanden aus 5 mm starken Eternitplatten. Darauf folgte eine 5 mm dicke Korkisolationsschicht. Die Außenwände bestanden aus Furnierplatten. Das eine Ende des Kastens war herausnehmbar. In einer Seitenwand befanden sich ein mit Glasscheibe und herausnehmbarem Deckel dicht verschließbares Fenster von 15 × 20 cm und zwei gleichfalls dicht verschließbare Öffnungen von 15 × 15 cm. Die Oberwand des Kastens bestand aus starkem Spiegelglase, über das ein Deckel mit Korkisolation lag. Die letzte Vorrichtung war für solche Versuche vorgesehen, die bei Belichtung durchgeführt werden sollten. Die Ränder aller herausnehmbarer Teile waren mit starken Gummistreifen versehen und mit Flügelschrauben dicht an den Kasten anschließbar. In den Wänden des Kastens waren mehrere mit Korkstopfen verschließbare Bohrungen für den Tubus des Quecksilberthermometers, die Leitungen der Thermoelemente und die Röhren der Luftleitung. Im Versuchskasten stand ein Wasserbehälter aus Zinkblech, dessen Größe 95 × 73 × 5 cm betrug und der mit einer durchlochten Zinkblechplatte bedeckt war. Parallel den Wänden des Kastens stand ein Gerüst aus Holzstäben mit Fließpapier. Die unteren Ränder des Fließpapieres ragten in das Wasser des Behälters hinein. Um nach Abschluß des Kastens die Wasserdampfsättigung der Luft zu beschleunigen, war an der heraus-

nehmbaren Wand des Kastens ein Wasserverstäuber angebracht, dessen Ende in den Kasten hineinragte. Der Kasten bot den Versuchsobjekten auch Schutz gegen kleine, nicht vermeidbare Temperaturschwankungen im Versuchsraume und ermöglichte, die Objekte dauernd in vollständiger Dunkelheit zu halten.

Schon bei den ersten Versuchen erwies sich, daß die nötige Wasserdampfsättigung der Luft des Versuchskastens mit beschriebener Vorrichtung nicht ganz erreicht werden konnte, deshalb versetzte man bei allen ferneren Versuchen ein jedes Objekt in eine kleine feuchte Drahtgitter-Verbandstoffkammer. Bei halbierten Knollen kamen beide Hälften einer Knolle in dieselbe Kammer.

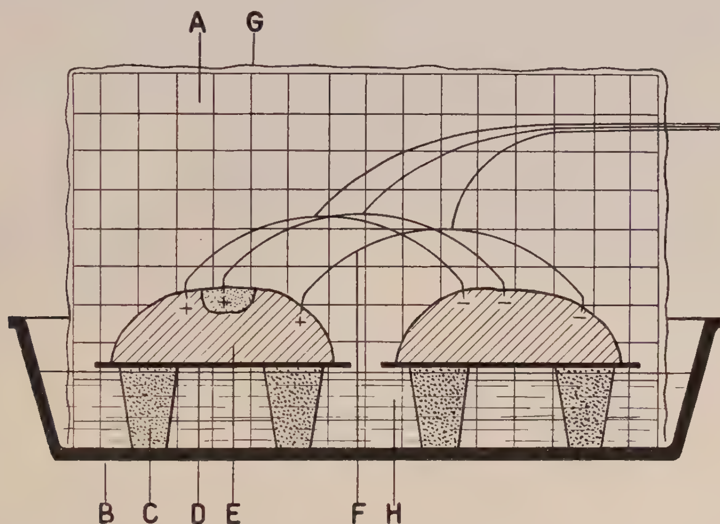


Abb. 3.
Drahtgitter-Verbandstoffkammer. Hälfte natürlicher Größe.
A Drahtgitterzelle. **B** Glasschale. **C** Korkstopfen. **D** Glasplatte. **E** Versuchsobjekt. **F** Thermoelemente. **G** Verbandstoffdecke. **H** Wasser.

Die feuchte Kammer, Abb. 3, bestand aus einer mit Aluminiumlack bestrichenen Drahtgitterzelle A, der als Unterlage eine mit Wasser gefüllte Glasschale B diente. In der Zelle, oberhalb des Wasserspiegels, befand sich eine auf vier Korkstopfen C gestützte Glasplatte D, auf der man das Versuchsobjekt E stellte. Nachdem das Versuchsobjekt mit Thermoelementen F versehen war, bedeckte man die Drahtgitterzelle mit doppelter Schicht wasserdurchtränkten Verbandstoffes G. Dieser stand in Verbindung mit dem Wasser H in der Schale und bot die nötige Wasserdampfsättigung im Innenraum der Zelle. Die Zellen wurden im Versuchskasten untergebracht.

Als Versuchsobjekte für die Temperaturmessungen dienten ganze gesunde, halbierte gesunde, ganze infizierte, halbierte an der einen Hälfte

infizierte und halbierte mit Chloroformnarkose abgetötete an der einen Hälfte infizierte Kartoffelknollen. Der Vorrat der Knollen wurde im Thermostaten bei + 6 — 8° C aufbewahrt. Für Infektionen gebrauchte man *Bacillus phytophthorus* von Kulturen auf Kartoffelsaft-Glukose-Peptonagar.

Das Prinzip der Kohlensäuremessungen bestand darin, daß man kohlensäurefreie Luft durch die Rezipienten der Versuchsobjekte leitete. Dort wurde die ausgeschiedene Kohlensäure von der Luft aufgenommen und in den Absorptionsgefäßen durch Barytlauge gebunden. Den Überschuß an Lauge titrierte man mit Salzsäure zurück und bestimmte die

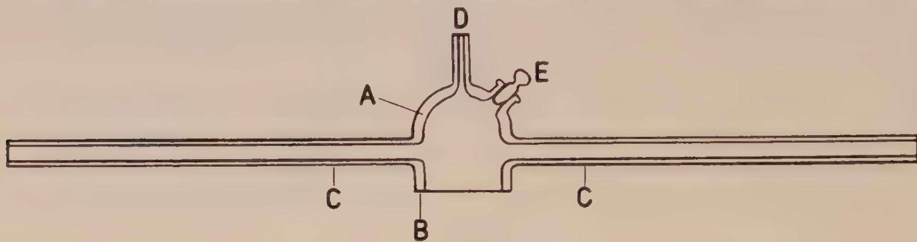


Abb. 4.
Kohlensäurerezipient. Hälfte natürlicher Größe.
A Glasglocke. **B** Plangeschliffener Rand. **C** Glasröhren. **D** Kanüle. **E** Tubus.

Menge der abgegebenen Kohlensäure. Da bei diesen Versuchen zu gleicher Zeit und an gleichen Objekten auch die thermischen Vorgänge festgestellt werden sollten, mußte die Apparatur für Temperatur- und Kohlensäuremessungen unter ein gemeinsames System gebracht werden.

Die nötige Druckluft erzeugte man mit einem Wasserstrahlgebläse nach Stuhl, mit Windkessel und Wasserabfluß-Regulierhahn. Die Luft zum Gebläse wurde vom Freien zugeleitet. Vom Wasserstrahlgebläse passierte die Luft durch eine Gaswaschflasche mit Kalkmilch, dieser folgte eine Flasche mit Kaliumpermanganatlösung, danach eine mit Gummistopfen dicht verschlossene Vorratsflasche von 5 l Inhalt. Diese mußte in das Luftleitungssystem eingeschaltet werden, um die Unregelmäßigkeiten des Luftdruckes möglichst auszugleichen. Man erlangte dieses durch starkes Abdrosseln des Luftstromes mittelst eines Quetschhahnes, der am dickwandigen Vakuumschlauch hinter der Vorratsflasche angebracht war. Der beschriebene Teil der Luftleitung befand sich außerhalb des Versuchskastens, im Versuchsraum. Durch eine Glasröhre gelangte die Leitung in den Versuchskasten. Zur Entfernung der Kohlensäure leitete man ferner die Luft durch vier Jenaer Gaswaschflaschen mit Kalilauge. Die Konzentration der Lauge betrug in der ersten Flasche 20%, in den folgenden 30, 40 und 50%. Die von Kohlensäure gereinigte Luft mußte, um die Temperaturmessungen durchführen zu können, mit Wasserdampf gesättigt werden. Zu diesem Zweck leitete man die Luft durch vier mit abgekochtem, destilliertem, kohlensäurefreiem Wasser versebene Jenaer Gaswaschflaschen. An diese kam ein entsprechend gebogenes Glasrohr.

an das sich der Luftstromverteiler anschloß. Darauf folgten zwei Rezipienten, an die die halbierten Knollen angebracht wurden.

Der Rezipient, Abb. 4, bestand aus einer kleinen, dickwandigen Glasglocke A mit plangeschliffenem Rande B. Der Innendurchmesser war bei allen Glocken der gleiche und betrug 19,5 mm. Jede Glocke war mit zwei seitlich angeschmolzenen Glasröhren C versehen, die am Luftstrom Anschluß fanden. Am gewölbten Teil der Glocke befand sich eine schmale Kanüle D für die Leitung des Thermoelementen und ein kleiner mit eingeschliffenem Glasstöpsel versehener Tubus E, durch den die Infektion ausgeführt werden konnte. Das Versuchsobjekt wurde am plangeschliffenen Rande des Rezipienten mit Zelluloid-Azetonkitt fest angekittet. Um die Haftbarkeit des Kittes zu steigern, mußte die äußere Glockenwand, anliegend dem plangeschliffenen Rande, matt geätzt werden.

Bei jedem Versuch standen zwei Rezipienten mit beiden Hälften einer Knolle in Betrieb. Die Infektion wurde innerhalb des Rezipienten mit vier etwa 2 mm tiefen Stichen mit einer langen Nadel an der einen Hälfte der Knolle durchgeführt. Die andere Hälfte erhielt vier gleiche sterile Stiche. Die beiden Hälften einer Knolle wurden mit drei Thermoelementen verbunden, wobei die + Pole immer an der infizierten Hälfte angebracht waren, die — Pole an den gesunden. Ein Thermoelement verband die Gewebe innerhalb der Rezipienten, zwei wurden außerhalb derselben, in bestimmter Entfernung von einander angebracht. Die Glasstöpsel, ebenso die Kanülen für die Thermoelemente, wurden zuletzt mit Krönigschem Glaskitt, bestehend aus einem Teil weißen Wachses und vier Teilen Kolophonium, luftdicht verkittet. Der Krönigsche Glaskitt fand auch Anwendung zum luftdichten Verschluß der Gaswaschflaschen und der Absorptionsgefäße.

Beide Rezipienten mit den angekitteten Versuchsobjekten stellte man in eine feuchte Drahtgitter-Verbandstoffkammer, die gleichfalls im Versuchskasten untergebracht war. Auf diese Weise konnten die Temperaturmessungen an den Geweben auch außerhalb der Rezipienten ohne Störungen unternommen werden. Die Rezipienten fanden mit Glasrohrleitung Anschluß an die Absorptionsgefäße. Diese standen außerhalb des Versuchskastens.

Um die Geschwindigkeit des Luftstromes genau einstellen zu können, mußte vor jedem Absorptionsgefäß ein kurzes Stück Vakuumschlauches eingeschaltet werden. Die Schläuche wurden mit Präzisionsquetschhähnen, Pregl, 1930, S. 27, bis zur erwünschten Luftstromgeschwindigkeit abgedrosselt. Zur Verbindung der einzelnen Elemente des Luftstromsystems oder zur Durchleitung der Luft bediente man sich dickwandiger Vakuumschläuche, die nach Pregl, 1930, S. 56, mit roher Vaseline im Vakuum imprägniert waren.

Die Absorptionsgefäße, Abb. 5, die zugleich auch zum Titrieren der Absorptionsflüssigkeit dienten, bestanden aus einem 260 mm langen Glas-

rohr A von 7 mm Innendurchmesser, an dessen oberem Ende eine einseitlich aufgeblasene Halbkugel B mit einem dicht verschließbaren, eingeschliffenen Glasstöpsel C angeschmolzen war. Durch den Glasstöpsel verliefen zwei Röhren. Die eine Röhre D, deren Innendurchmesser 1,5 mm betrug, mündete im untersten Teil des Absorptionsgefäßes und diente zur Zuleitung der Luft vom Rezipienten. Die Mündung E dieser Röhre war seitlich gebogen und ihr Lumen bis auf annähernd 0,2 mm verschmälert. Infolgedessen wurde die in die Absorptionsflüssigkeit hineintretende Luft gegen die Wand des Gefäßes gepreßt und in kleine Bläschen zerspalten, die dann langsam in der Absorptionsflüssigkeit emporstiegen. Das äußere Ende F des Luftzuleitungsrohres war weitlumiger und mit einem Dreiwegehahn G versehen. Das Absorptionsgefäß konnte infolgedessen an den Luftstrom angeschlossen werden, ohne sofort die Luft in das Gefäß hineinleiten zu müssen, was zu Beginn des Versuches erwünscht war. Durch den Glasstöpsel verlief gleichfalls die Mündung einer auf Hundertstel Kubikzentimeter geteilten Bürette H für die Titrationssäure. An der flachen Seite der Halbkugel war eine schräg verlaufende mit Glashahn versehene Röhre J angeschmolzen, durch die man die Absorptionsflüssigkeit aus einer automatisch füllbaren Pipette mit einer spitzgezogenen Mündung und den Indikator hineinführte. An derselben Röhre war ein Natronkalkrohr K angeschmolzen, welches den Ausgleich des Überdruckes beim Hineinführen der Säure ermöglichte. Der Aufbau des Absorptions- und Titrationsgefäßes ist am besten aus der Abbildung zu ersehen.

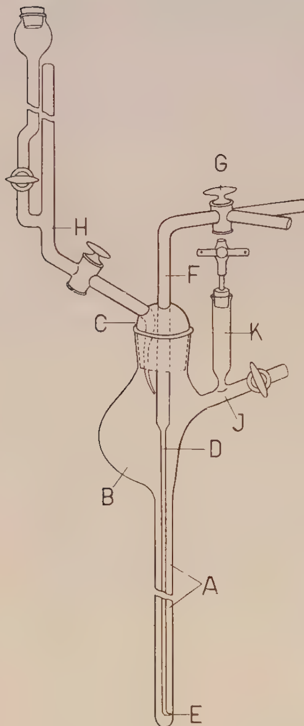


Abb. 5.

Da man die Kohlensäurebestimmungen kontinuierlich durchführte, bediente man sich vier solcher Gefäße. Zwei befanden sich fortwährend in Betrieb, weitere zwei wurden für die Messungen bereitgestellt. Ein fünftes Gefäß war Reserve.

Vor dem Gebrauch wurden die Absorptionsgefäße mechanisch gereinigt, danach einmal mit verdünnter Salzsäure, dreimal mit Leitungswasser, dreimal mit destilliertem Wasser und einmal mit Alkohol gespült, danach mit Wärme getrocknet, der Stöpsel mit Krönigschem Glaskitt verschlossen und von der Kohlensäure enthaltenden Luft gereinigt. Für die Reinigung der Gefäße benutzte man den Luftstrom einer Luftdruckmaschine. Die Luft wurde auf beschriebene Weise von der Kohlensäure befreit und durch die leeren Absorptionsgefäße mit einer Geschwindig-

keit von 20 ccm je Minute geleitet. Das Volumen der Gefäße betrug annähernd 90 ccm. Um die Kohlensäure enthaltende Luft aus den Gefäßen vollständig zu verdrängen, mußte das vierfache Volumen, etwa 360 ccm kohlensäurefreier Luft, durch die Gefäße geleitet werden, was man bei der genannten Luftstromgeschwindigkeit in 18—20 Minuten erreichte. Die Geschwindigkeit des Luftstromes bestimmte man mit Blasenzählern. Darauf wurden die Absorptionsgefäße mit einer immer genau gleichen Menge der Absorptionsflüssigkeit durch die seitlich angeschmolzene Röhre aus der automatischen Pipette beschickt. Das Volumen der angewandten Menge betrug 5 ccm und ihr Titer war genau bekannt. Die automatische Pipette wurde mit kleinen Modifikationen nach Gaßner und Goeze, 1932, S. 435, konstruiert. Deren Einzelheiten sind aus der Abb. 6 zu ersehen.

Nach Anschluß der Absorptionsgefäße an die Luftleitung wurden sie mit Blasenzählern und den Mariotteschen Flaschen, Pregl, 1930, S. 53—54, verbunden und die Luftstromgeschwindigkeit auf 2 bis 3 ccm die Minute eingestellt. Abb. 7 zeigt im Grundriß die Anordnung der beschriebenen Apparatur.

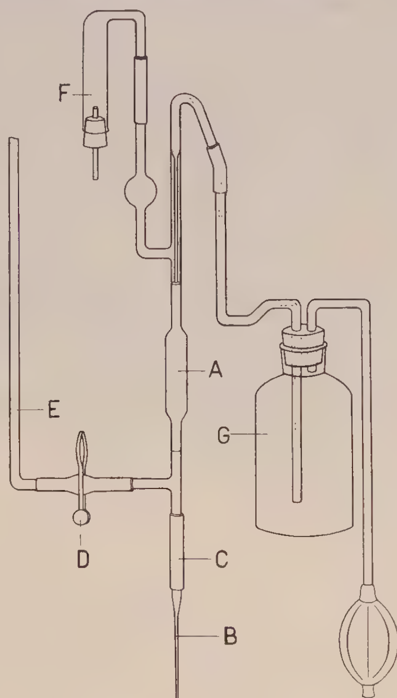


Abb. 6.
Automatische Pipette. **A** Pipette, **B** Spitzgezogene Mündung, **C** Bunsenscher Verschluß, **D** Quetschhahn, **E** Verbindungsröhre mit der Vorratsflasche, **F** Natronkalkrohr, **G** Absaugflasche.

Die Absorptions- und Titrationsflüssigkeiten wurden nach Lieb und Krainick, 1931, S. 367—384, in für Mikroanalyse empfohlenen Konzentrationen hergestellt. Man benutzte 1/10 n Barytlauge, die 1 % Baryumchlorid enthielt und 1/20 n kohlensäurefreie Salzsäure mit 3 % Baryumchlorid-Zusatz. Der Faktor der Säure wurde mit Natriumkarbonat nach Sörensen in Hitze mit Methylrot als Indikator bestimmt. Beim Titrieren der Barytlauge gebrauchte man als Indikator 1 % Phenolphthaleinlösung. Die Flüssigkeiten wurden in dicht mit Gummistopfen verschlossenen und mit Natronkalkröhren versehenen Abklärflaschen aufbewahrt.

3. Die Temperaturen gesunder und erkrankter Gewebe.

A. Temperaturmessungen an ganzen gesunden Knollen.

(Ausgeführt an zehn Knollen mit 30 Thermoelementen.)

Bei den nunmehr zu besprechenden Versuchen sollten die Temperaturveränderungen in den infizierten Geweben auf die Temperatur gesunder

Gewebe derselben Knolle, als auf den Nullpunkt, bezogen werden. Es mußte deshalb festgestellt werden, ob in einer gesunden Knolle die Gewebe überall die gleiche Temperatur aufweisen. Diese Frage ist schon von Thiessen, 1912, S. 53—106, im Zusammenhange mit den Wundfiebermessungen, eingehend behandelt worden. Durch Temperaturmessungen an halbierten Kartoffelknollen und Äpfeln hat Thiessen festgestellt, daß nach Neubildung einer Wundkorkschicht, nach 2 bis 3 Tagen beide Hälften eines Objektes stets die gleichen Temperaturen aufweisen. Bei Messungen

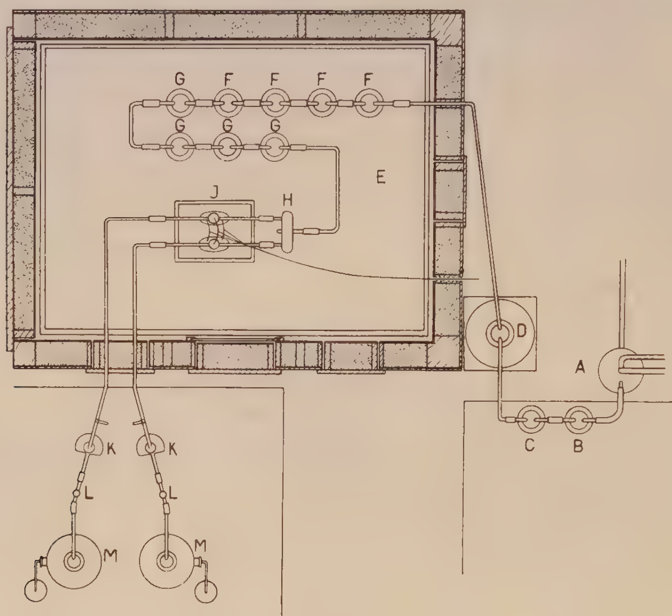


Abb. 7.

Grundriß der Apparatur für Temperatur- und Kohlensäuremessungen. **A** Wasserstrahlgebläse. **B** und **C** Gaswaschflaschen mit Kalkmilch und Kaliumpermanganat, **D** Luftdruckregulator. **E** Versuchskasten, **F** Jenaer Gaswaschflaschen mit Kalilauge, **G** Jenaer Gaswaschflaschen mit destilliertem Wasser, **H** Luftstromverteiler, **J** Feuchte Kammer mit Rezipienten und Versuchsobjekten, **K** Absorptionsgefäße, **L** Blasenzähler, **M** Mariottesche Flaschen.

an Hälften verschiedener Objekte sei niemals die Nullage eingetreten. Es galt hier mit einigen Versuchen die Ergebnisse Thiessen nochmals zu bestätigen.

Aus technischen Gründen kann das umfangreiche Material aller Messungen hier nicht wiedergegeben werden. Es seien die Temperaturmessungen an ganzen gesunden Knollen nur an Hand von drei Objekten besprochen.

Durchführung des Versuches. Objekte einem Thermostaten mit + 6 – 8° C entnommen, in 0,1 % Formaldehydlösnng desinfiziert, getrocknet, in die Drahtgitterkammer des Versuchskastens gestellt und 50 Stunden zum Ausgleich der Temperatur stehen gelassen. Darauf jede Knolle mit drei Thermoelementen versehen, Drahtgitterkammer mit wasser-

durchtränktem Verbandstoff bedeckt, Versuchskasten geschlossen, mit dem Verstäuber Wasser in den Versuchskasten gestäubt, nach einer Stunde mit den Ablesungen der Galvanometer-Ausschläge begonnen.

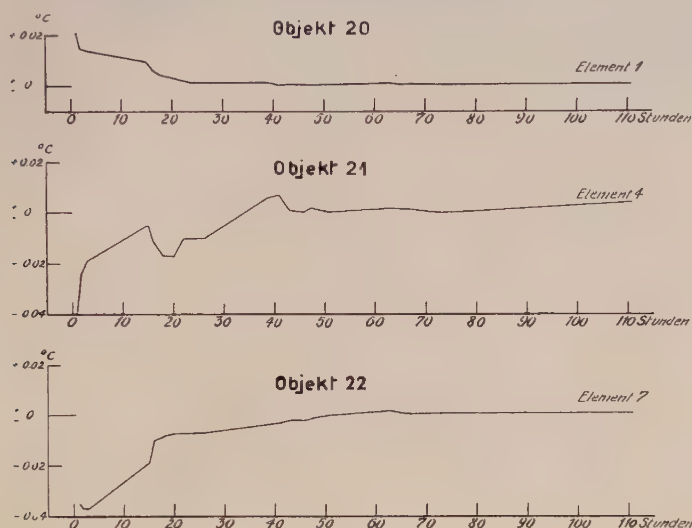


Abb. 8.
Temperaturkurven bei gesunden ganzen Knollen.

Anlage der Thermoelemente:

Objekt 20. Beide Pole jedes Thermoelementes an gleicher Seite einer flachen Knolle.

Objekt 21. + Pole am Kronenende, — Pole am Nabelende.

Objekt 22. + und — Pole an unterschiedlichen Seiten einer flachen Knolle.



Abb. 9.
Anlage der Thermoelemente bei gesunden ganzen Knollen.
Hälfte natürlicher Größe.

Die Anlage der Thermoelemente ist in der Abb. 9 schematisch dargestellt. Es sei hier bemerkt, daß bei allen Messungen peinlichst vermieden wurde, die Thermoelemente in die „Augen" der Knollen zu versetzen, da bei beginnender Entfaltung der Keime die thermischen Verhältnisse dort sich wesentlich ändern. Die Empfindlichkeit der angewandten

Elemente betrug 0,00171—0,00178° C je 1 mm der Skalateilung. Die Ergebnisse der Messungen sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Die Kurven in Abb. 8 veranschaulichen die thermischen Verhältnisse in den Objekten 20. 21 und 22. Objekte 20 und 22 bieten die Normalfälle, mit fast vollständigem Temperaturausgleich nach 50 Stunden, Objekt 21 bildet einen Ausnahmefall mit kleinen Temperaturdifferenzen, die aber 0,0036° C nicht überschreiten.

Tabelle 1.

Ergebnisse der Temperaturmessungen an gesunden ganzen Knollen. (Versuch 1.)

Temperaturdifferenzen in ° C.

Stunden nach Anlage der Thermoelemente	Objekt 20			Objekt 21			Objekt 22		
	Element 1	Element 2	Element 3	Element 4	Element 5	Element 6	Element 7	Element 8	Element 9
1	+ 0,02136	+ 0,02436	+ 0,01792	- 0,03910	— 0,07380	0,12340	— 0,03540	— 0,04702	— 0,0342
2	+ 0,01424	+ 0,02245	+ 0,01740	— 0,02380	— 0,05580	— 0,14760	- 0,03740	— 0,03932	— 0,0345
3	+ 0,01353	+ 0,01740	+ 0,01531	— 0,01870	— 0,04860	— 0,08280	— 0,03740	— 0,03654	— 0,0324
15	+ 0,00872	+ 0,01288	+ 0,00974	— 0,00510	— 0,01224	0,02052	— 0,01938	— 0,02088	— 0,0172
16	+ 0,00613	+ 0,01027	+ 0,00661	— 0,01190	— 0,01620	— 0,01404	— 0,00986	— 0,01044	— 0.0085
18	+ 0,00374	+ 0,00626	+ 0,00504	— 0,01700	— 0,02160	— 0,02286	— 0,00816	— 0,00905	— 0,0087
20	+ 0,00320	+ 0,00487	+ 0,00452	— 0,01700	— 0,01980	— 0,08340	— 0,00680	— 0,01009	— 0,0085
22	+ 0,00170	+ 0,00191	+ 0,00139	— 0,01020	— 0,01800	— 0,02160	— 0,00697	— 0,00922	— 0.0061
24	+ 0,00125	+ 0,00087	+ 0,00087	— 0,01020	— 0,01656	— 0,01872	— 0,00680	— 0.00748	— 0,0047
26	+ 0,00071	+ 0,00104	+ 0,00070	— 0,01020	— 0,01620	— 0,01152	— 0,00680	— 0,00661	— 0,0020
39	+ 0,00071	+ 0,00104	+ 0,00087	+ 0,00629	+ 0,00198	+ 0,00360	— 0,00357	— 0,00661	— 0,0023
41	+ 0.00018	+ 0,00070	+ 0,00053	+ 0,00714	+ 0,00198	+ 0,00684	— 0,00327	— 0,00400	— 0,0020
43	+ 0,00053	+ 0,00052	+ 0,00053	+ 0,00102	— 0,00126	+ 0,00216	— 0,00170	— 0,00373	— 0,0022
46	+ 0,00071	+ 0,00070	+ 0,00035	+ 0,00051	— 0,00162	+ 0,00018	— 0,00208	— 0,00261	— 0,0015
48	+ 0,00036	+ 0,00052	+ 0,00053	+ 0,00170	+ 0,00036	+ 0,00180	— 0,00103	— 0,00139	— 0,0006
51	+ 0,00053	+ 0,00035	+ 0,00017	± 0	- 0,00072	— 0,00360	— 0,00034	— 0,00104	— 0,0012
63	+ 0,00071	+ 0 00017	+ 0,00053	+ 0,00187	+ 0,00306	— 0,00162	+ 0,00154	+ 0,00035	— 0,0006
65	+ 0,00036	+ 0,00052	+ 0,00070	+ 0,00153	+ 0,00234	— 0,00180	+ 0,00103	+ 0,00122	+ 0,0010
67	+ 0,00071	+ 0,00070	+ 0,00035	+ 0,00153	+ 0,00018	— 0,00180	+ 0,00052	— 0,00052	— 0,0003
73	+ 0,00053	+ 0,00052	+ 0,00035	+ 0,00017	0,00126	- 0,00270	+ 0,00069	+ 0,00033	— 0,0008
111	+ 0.00089	+ 0,00070	+ 0,00053	+ 0,00442	+ 0,00108	+ 0,00234	— 0,00069	+ 0,00052	— 0.0012

B. Temperaturmessungen an gesunden halbierten Knollen.

(Ausgeführt an zehn Knollen mit 10 Thermoelementen.)

70 Stunden vor Beginn der Messungen Knollen halbiert. Das Übrige wie bei Versuch 1, Abt. A. Beide Hälften einer Knolle mit einem Thermoelement verbunden. Die Anlage der Thermoelemente an die einzelnen Knollen war verschieden. Bei den Objekten 73, 74, 75 und 82 waren die Pole der Elemente in der Mitte der Hälften angebracht, bei Objekten 76, 77, 78 am Kronenende, bei 79, 80 und 81 an den Nabelenden. Die Anlage der Elemente ist in der Abb. 11 dargestellt. Die Empfindlichkeit der Thermoelemente betrug 0,00146—0,00167° C je 1 mm der Skalateilung. Die Ergebnisse der Messungen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Die Kurven in Abb. 10 schildern die thermischen Verhältnisse in den Objekten 75, 77 und 79.

C. Temperaturmessungen an ganzen, mit *Bacillus phytophthorus* infizierten Knollen.

(Gemessen an 22 Knollen mit 45 Thermoelementen).

Versuchsobjekte frühe Speisekartoffel „Fischli", süditalienischer Herkunft. 51 Stunden vor Beginn des Versuches in die Drahtgitterkammer

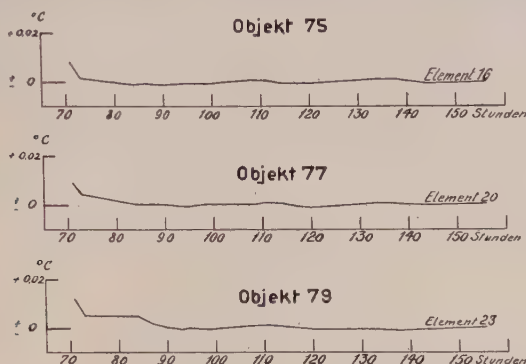


Abb. 10.
Temperaturkurven bei gesunden halbierten Knollen.

des Versuchskastens gestellt. Darauf mit Thermoelementen versehen und mit vier in quadratischer Figur angeordneten etwa 2 mm tiefen Stichen infiziert. Infektionsmaterial einer neun Tage alten Kultur entnommen. Empfindlichkeit der Thermoelemente 0,00135—0,00167° C je 1 mm der

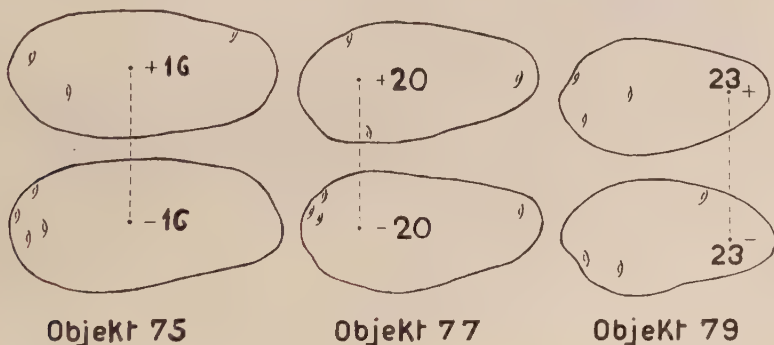


Abb. 11.
Anlage der Thermoelemente bei gesunden halbierten Knollen.
Hälfte natürlicher Größe.

Skalateilung. Nach Abschluß der Messungen die Knollen in Längsrichtung durch die Infektionsstellen halbiert und die Infektionsstufen durch Messungen der aufgeweichten Gewebeteile festgestellt.

In Tabelle 3 sind Temperaturmessungen an vier Knollen mit acht Thermoelementen zusammengefaßt. Aus den Abb. 13 und 16 sind die

Tabelle 2.

Ergebnisse der Temperaturmessungen an gesunden halbierten Knollen. (Versuch 2).

Temperaturdifferenzen in ° C.

Stunden nach Halbierung der Knollen	Objekt 73 Element 2	Objekt 74 Element 12	Objekt 75 Element 16	Objekt 76 Element 19	Objekt 77 Element 20	Objekt 78 Element 21	Objekt 79 Element 23	Objekt 80 Element 25	Objekt 81 Element 27	Objekt 82 Element 35
71	— 0,00051	+ 0,00161	+ 0,00811	+ 0,00236	+ 0,00882	+ 0,00556	+ 0,01205	+ 0,00030	+ 0,00496	+ 0,00359
73	— 0,00034	+ 0,00088	+ 0,00153	+ 0,00173	+ 0,00441	+ 0,00397	+ 0,00498	+ 0,00030	+ 0,00336	+ 0,00375
84	+ 0,00084	+ 0,00015	— 0,00061	+ 0,00141	+ 0,00049	+ 0,00286	+ 0,00514	+ 0,00090	— 0,00048	+ 0,00109
87	+ 0,00051	+ 0,00044	— 0,00015	+ 0,00016	+ 0,00065	+ 0,00191	+ 0,00225	+ 0,00060	— 0,00048	— 0,00031
90	+ 0,00067	+ 0,00029	— 0,00061	— 0,00031	± 0	+ 0,00127	+ 0,00032	+ 0,00030	+ 0,00064	— 0,00031
93	+ 0,00034	+ 0,00015	— 0,00077	— 0,00094	— 0,00033	+ 0,00032	— 0,00032	± 0	+ 0,00048	+ 0,00031
95	+ 0,00084	+ 0,00088	— 0,00061	± 0	— 0,00049	— 0,00016	± 0	± 0	+ 0,00032	+ 0,00016
99	+ 0,00051	+ 0,00088	— 0,00077	+ 0,00063	+ 0,00049	— 0,00016	— 0,00048	— 0,00045	+ 0,00064	— 0,00031
108	— 0,00067	+ 0,00059	+ 0,00046	+ 0,00094	+ 0,00016	— 0,00048	+ 0,00064	— 0,00075	— 0,00016	± 0
111	— 0,00034	+ 0,00059	+ 0,00046	+ 0,00063	+ 0,00082	± 0	+ 0,00080	— 0,00045	— 0,00064	— 0,00031
114	— 0,00034	+ 0,00059	— 0,00015	+ 0,00016	+ 0,00049	— 0,00079	+ 0,00064	— 0,00045	— 0,00016	+ 0,00047
117	— 0,00051	± 0	— 0,00031	+ 0,00063	— 0,00033	— 0,00032	± 0	± 0	± 0	- 0,00047
120	— 0,00051	— 0,00029	— 0,00046	— 0,00031	— 0,00065	— 0,00064	— 0,00064	— 0,00030	± 0	+ 0,00031
134	0,00034	+ 0,00059	+ 0,00092	— 0,00063	+ 0,00082	— 0,00079	— 0,00048	+ 0,00030	+ 0,00032	+ 0,00047
138	— 0,00067	± 0	+ 0,00092	— 0,00016	+ 0,00049	+ 0,00016	— 0,00080	— 0,00060	+ 0,00032	+ 0,00016
144	— 0,00067	+ 0,00059	— 0,00046	+ 0,00031	± 0	+ 0,00032	— 0,00064	+ 0,00015	+ 0,00080	— 0,00031
156	— 0,00051	+ 0,00044	± 0	— 0,00016	+ 0,00033	+ 0,00048	± 0	+ 0,00030	+ 0,00016	+ 0,00031

Infektionsstufen beim Abschluß des Versuches und die Anlage der Thermoelemente an zehn Knollen zu ersehen. Die Kurven in Abb. 12, 14 und 15 veranschaulichen die thermischen Vorgänge in diesen Knollen.

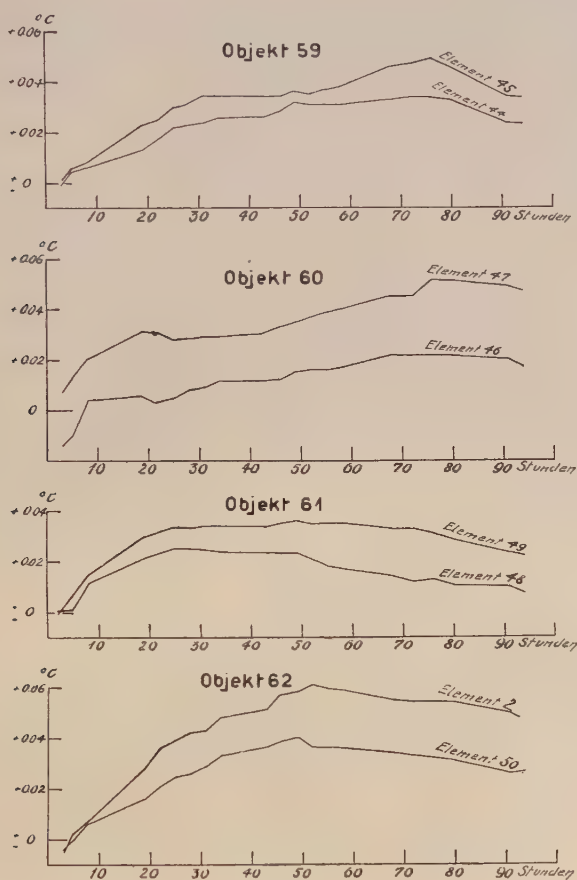


Abb. 12.

Temperaturkurven bei ganzen, infizierten Knollen. (Zur Tabelle 3.)

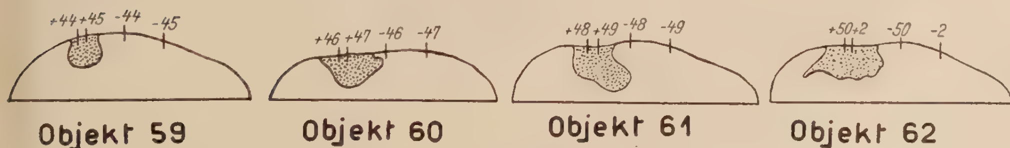


Abb. 13.

Anlage der Thermoelemente und die Infektionsstufen bei ganzen infizierten Knollen. Hälfte natürlicher Größe.
(Zur Tabelle 3 und Abb. 12.)

D. Temperaturmessungen an halbierten, mit *Bacillus phytophthorus* infizierten Knollen.

(Ausgeführt an 31 Knollen mit 90 Thermoelementen.)

Versuchsobjekte frühe Speisekartoffel „Fischli". Üblicherweise aufbewahrt und behandelt. 66 Stunden vor Infektion halbiert und beide Hälften jeder Knolle in eine Drahtgitter-Verbandstoffzelle des Versuchs-

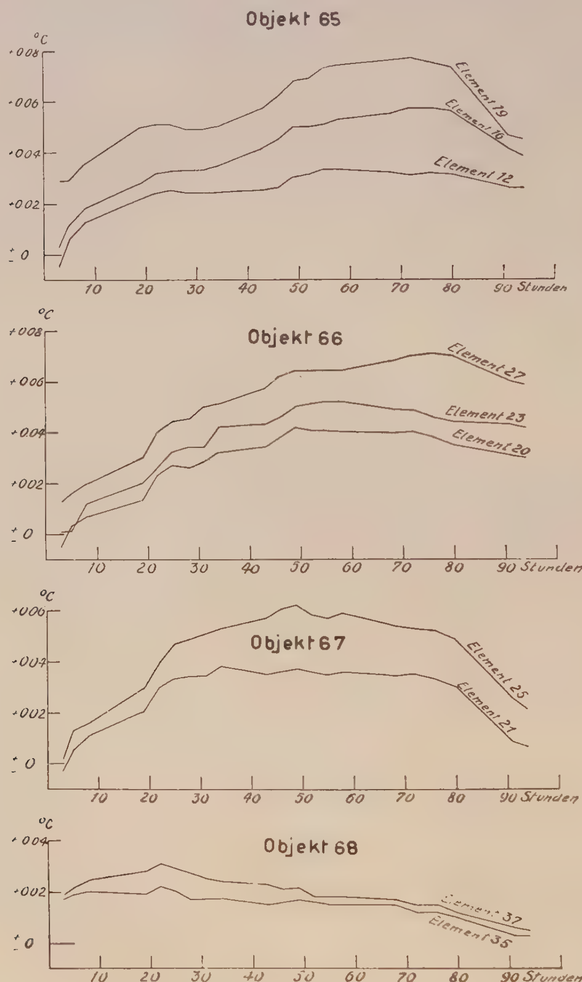


Abb. 14.
Temperaturkurven bei ganzen infizierten Knollen.

kastens gestellt. Eine Hälfte jeder Knolle mit vier in quadratischer Figur angeordneten Stichen infiziert, die andere Hälfte mit gleichen, aber sterilen Stichen verletzt, beide Hälften mit Thermoelementen verbunden. Infektionsmaterial einer sechs Tage alten Kultur entnommen. Empfindlichkeit

der Thermoelemente 0,00129—0,00175 ° C je 1 mm der Skalateilung. Die Anlage der Thermoelemente an zehn Knollen und die erreichten Infektionsstufen sind aus den Abb. 18 und 22 zu ersehen. Die Kurven in

Tabelle 3.

Ergebnisse der Temperaturmessungen an ganzen mit *Bacillus phytophthorus* infizierten Knollen. (Versuch 3.)

Temperaturdifferenzen in ° C.

Stunden nach Infektion	Objekt 59		Objekt 60		Objekt 61		Objekt 62	
	Element 44	Element 45	Element 46	Element 47	Element 48	Element 49	Element 50	Element 2
3	— 0,00100	+ 0,00146	— 0,01434	+ 0,00709	+ 0,00014	— 0,00041	— 0,00370	— 0,00536
5	+ 0,00416	+ 0,00584	— 0,01022	+ 0,01279	+ 0,00157	+ 0,00690	+ 0,00178	+ 0,00235
8	+ 0,00576	+ 0,00847	+ 0,00427	+ 0,01960	+ 0,01148	+ 0,01489	+ 0,00602	+ 0,00754
19	+ 0,01263	+ 0,02102	+ 0,00580	+ 0,03128	+ 0,02121	+ 0,02992	+ 0,01588	+ 0,02797
22	+ 0,01722	+ 0,02467	+ 0,00336	+ 0,03058	+ 0,02364	+ 0,03158	+ 0,02122	+ 0,03585
25	+ 0,02167	+ 0,02964	+ 0,00503	+ 0,02836	+ 0,02540	+ 0,03365	+ 0,02478	+ 0,03869
28	+ 0,02282	+ 0,03051	+ 0,00793	+ 0,02850	+ 0,02472	+ 0,03323	+ 0,02628	+ 0,04221
31	+ 0,02411	+ 0,03358	+ 0,00915	+ 0,02905	+ 0,02459	+ 0,03406	+ 0,02902	+ 0,04271
34	+ 0,02583	+ 0,03387	+ 0,01159	+ 0,02933	+ 0,02391	+ 0,03406	+ 0,03327	+ 0,04791
43	+ 0,02583	+ 0,03402	+ 0,01129	+ 0,03016	+ 0,02310	+ 0,03379	+ 0,03642	+ 0,05142
46	+ 0,02841	+ 0,03416	+ 0,01190	+ 0,03308	+ 0,02337	+ 0,03503	+ 0,03874	+ 0,05695
49	+ 0,03171	+ 0,03635	+ 0,01510	+ 0,03545	+ 0,02270	+ 0,03613	+ 0,04025	+ 0,05829
52	+ 0,03057	+ 0,03548	+ 0,01571	+ 0,03517	+ 0,02094	+ 0,03544	+ 0,03642	+ 0,06131
55	+ 0,03128	+ 0,03708	+ 0,01571	+ 0,03850	+ 0,01837	+ 0,03544	+ 0,03587	+ 0,05946
58	+ 0,03114	+ 0,03801	+ 0,01678	+ 0,04003	+ 0,01729	+ 0,03544	+ 0,03573	+ 0,05930
68	+ 0,03315	+ 0,04599	+ 0,02181	+ 0,04893	+ 0,01365	+ 0,03282	+ 0,03423	+ 0,05544
72	+ 0,03372	+ 0,04716	+ 0,02181	+ 0,04893	+ 0,01243	+ 0,03254	+ 0,03272	+ 0,05461
76	+ 0,03401	+ 0,04920	+ 0,02181	+ 0,05157	+ 0,01297	+ 0,03103	+ 0,03176	+ 0,05494
80	+ 0,03272	+ 0,04555	+ 0,02150	+ 0,05115	+ 0,01054	+ 0,02868	+ 0,03121	+ 0,05427
91	+ 0,02396	+ 0,04380	+ 0,01998	+ 0,04907	+ 0,01013	+ 0,02399	+ 0,02642	+ 0,04992
94	+ 0,02396	+ 0,04351	+ 0,01708	+ 0,04782	+ 0,00757	+ 0,02248	+ 0,02656	+ 0,04673

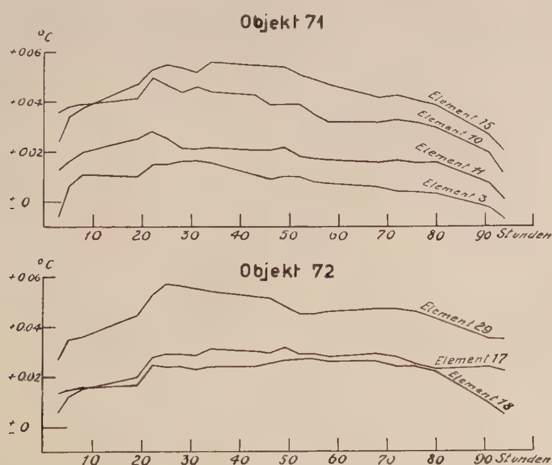


Abb. 15.

Temperaturkurven bei ganzen infizierten Knollen.

Abb. 17, 19—21 veranschaulichen die thermischen Vorgänge bei obigen Objekten. Tabelle 4 bietet die Ergebnisse der Temperaturmessungen an drei Objekten.

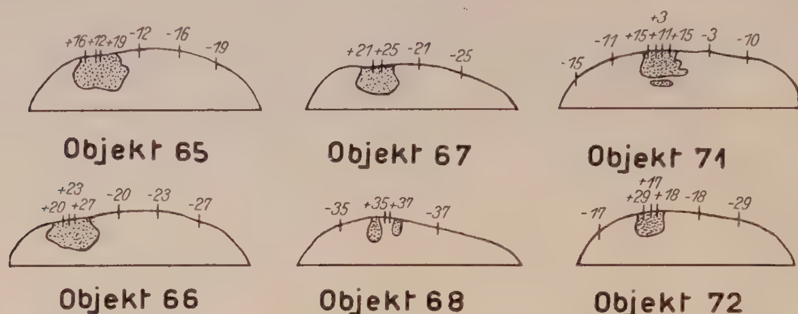


Abb. 16.
Anlage der Thermoelemente und die Infektionsstufen bei ganzen infizierten Knollen. Hälfte natürlicher Größe. (Zu den Abb. 14 und 15.)

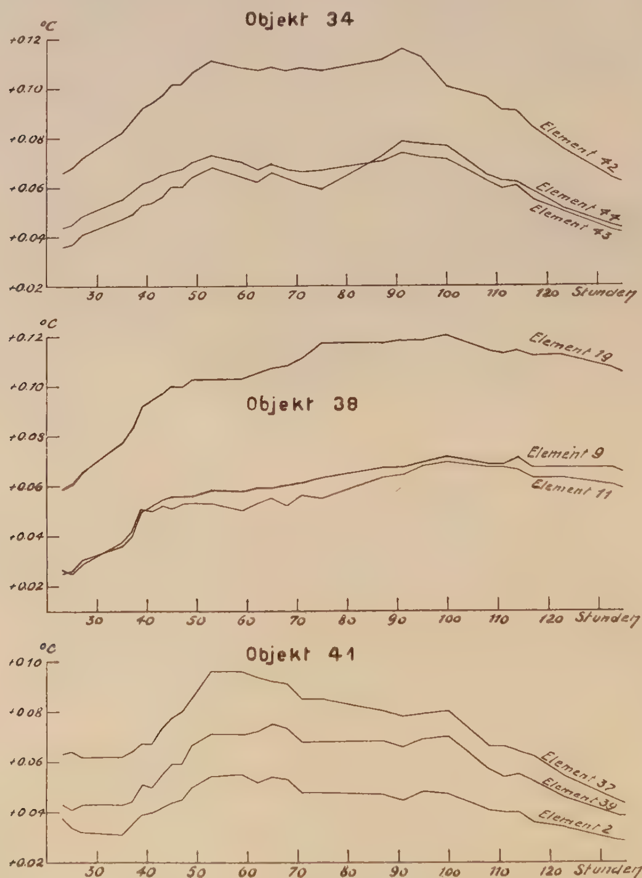


Abb. 17.
Temperaturkurven bei halbierten infizierten Knollen.
(Zur Tabelle 4.)

Tabelle 4.

Ergebnisse der Temperaturmessungen an halbierten mit *Bacillus phytophthorus* infizierten Knollen. (Versuch 4.)

Temperaturdifferenzen in °C.

Stunden nach Infektionen	Objekt 34			Objekt 38			Objekt 41		
	Element 43	Element 42	Element 44	Element 9	Element 19	Element 11	Element 2	Element 37	Element 39
21	+ 0,03761	+ 0,06166	+ 0,03126	+ 0,02179	+ 0,05228	+ 0,02779	+ 0,03350	+ 0,05503	+ 0,03532
23	+ 0,04371	+ 0,06565	+ 0,03588	+ 0,02497	+ 0,05919	+ 0,02748	+ 0,03819	+ 0,06316	+ 0,04305
25	+ 0,04514	+ 0,06787	+ 0,03728	+ 0,02631	+ 0,06123	+ 0,02543	+ 0,03367	+ 0,06396	+ 0,04129
27	+ 0,04851	+ 0,07190	+ 0,04060	+ 0,03050	+ 0,06641	+ 0,02999	+ 0,03166	+ 0,06205	+ 0,04270
35	+ 0,05447	+ 0,08189	+ 0,04721	+ 0,03570	+ 0,07740	+ 0,03674	+ 0,03116	+ 0,06157	+ 0,04305
37	+ 0,05837	+ 0,08732	+ 0,04865	+ 0,03972	+ 0,08305	+ 0,04239	+ 0,03518	+ 0,06364	+ 0,04410
39	+ 0,06161	+ 0,09202	+ 0,05324	+ 0,04978	+ 0,09200	+ 0,04993	+ 0,03869	+ 0,06747	+ 0,05130
41	+ 0,06316	+ 0,09369	+ 0,05367	+ 0,05196	+ 0,09467	+ 0,05040	+ 0,04037	+ 0,06683	+ 0,04970
43	+ 0,06485	+ 0,09688	+ 0,05597	+ 0,05447	+ 0,09734	+ 0,05165	+ 0,04238	+ 0,07257	+ 0,05535
45	+ 0,06605	+ 0,10105	+ 0,05970	+ 0,05581	+ 0,09954	+ 0,05087	+ 0,04422	+ 0,07748	+ 0,05886
47	+ 0,06731	+ 0,10132	+ 0,05955	+ 0,05615	+ 0,09954	+ 0,05354	+ 0,04539	+ 0,08039	+ 0,05939
49	+ 0,06952	+ 0,10590	+ 0,06386	+ 0,05631	+ 0,10252	+ 0,05385	+ 0,04975	+ 0,08549	+ 0,06659
53	+ 0,07280	+ 0,11076	+ 0,06773	+ 0,05816	+ 0,10284	+ 0,05369	+ 0,05410	+ 0,09634	+ 0,07151
59	+ 0,07004	+ 0,10785	+ 0,06443	+ 0,05832	+ 0,10284	+ 0,05024	+ 0,05528	+ 0,09586	+ 0,07098
62	+ 0,06705	+ 0,10688	+ 0,06156	+ 0,05883	+ 0,10456	+ 0,05322	+ 0,05226	+ 0,09426	+ 0,07151
65	+ 0,06900	+ 0,10826	+ 0,06601	+ 0,05883	+ 1,10692	+ 0,05464	+ 0,05360	+ 0,09203	+ 0,07485
68	+ 0,06718	+ 0,10729	+ 0,06257	+ 0,05983	+ 0,10802	+ 0,05212	+ 0,05276	+ 0,09076	+ 0,07309
71	+ 0,06576	+ 0,10813	+ 0,06070	+ 0,06101	+ 0,11053	+ 0,05558	+ 0,04791	+ 0,08533	+ 0,06782
75	+ 0,06654	+ 0,10688	+ 0,05898	+ 0,06268	+ 0,11697	+ 0,05542	+ 0,04841	+ 0,08533	+ 0,06782
87	+ 0,06978	+ 0,11090	+ 0,07161	+ 0 06738	+ 0,11681	+ 0,06343	+ 0,04724	+ 0,08023	+ 0,06782
91	+ 0,07354	+ 0,11548	+ 0,07792	+ 0,06687	+ 0,11822	+ 0,06390	+ 0,04489	+ 0,07847	+ 0,06589
95	+ 0,07172	+ 0,11243	+ 0,07749	+ 0,06771	+ 0,11838	+ 0,06814	+ 0,04824	+ 0,07911	+ 0,06870
100	+ 0,07095	+ 0,10007	+ 0,07606	+ 0,07056	+ 0,11995	+ 0,06939	+ 0,04707	+ 0,08039	+ 0,06975
108	+ 0,06213	+ 0,09563	+ 0,06443	+ 0,06788	+ 0,11351	+ 0,06767	+ 0,04070	+ 0,06635	+ 0,05710
111	+ 0,05927	+ 0,09064	+ 0,06185	+ 0,06821	+ 0,11288	+ 0,06704	+ 0,04003	+ 0,06619	+ 0,05412
114	+ 0,06005	+ 0,08955	+ 0,06142	+ 0,07106	+ 0,11445	+ 0,06578	+ 0,03970	+ 0,06364	+ 0,05499
117	+ 0,05538	+ 0,08358	+ 0,05769	+ 0,06654	+ 0,11194	+ 0,06296	+ 0,03618	+ 0,06173	+ 0,05183
123	+ 0,04968	+ 0,07523	+ 0,05023	+ 0,06721	+ 0,11226	+ 0,06280	+ 0,03367	+ 0,05407	+ 0,04638
133	+ 0,04241	+ 0,06330	+ 0,04449	+ 0,06704	+ 0,10692	+ 0,05982	+ 0,02948	+ 0,04514	+ 0,03918
137	+ 0,03969	+ 0,05968	+ 0,04118	+ 0,06436	+ 0,10362	+ 0,05715	+ 0,02831	+ 0,04227	+ 0,03918

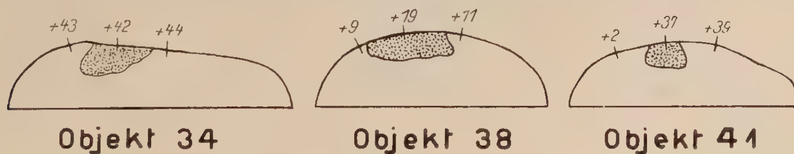


Abb. 18.
Anlage der Thermoelemente und die Infektionsstufen bei halbierten, infizierten Knollen. Hälfte natürlicher Größe.
(Zur Tabelle 4 und Abb. 17.)

E. Temperaturmessungen an abgetöteten Knollen.

(Ausgeführt an 52 Knollen mit 73 Thermoelementen.)

Anschließend an die Versuche mit lebenden Knollen wurden Temperaturmessungen an abgetöteten Geweben unternommen. Zum Abtöten der

Knollen benutzte man entweder Temperatur von 100° C, indem man die Objekte im Dampftopf sterilisierte, oder Chloroformnarkose.

Auf die Versuche mit den bei 100° C abgetöteten Knollen sei hier nicht näher eingegangen, da die mit Schale bedeckten kompakten Ge-

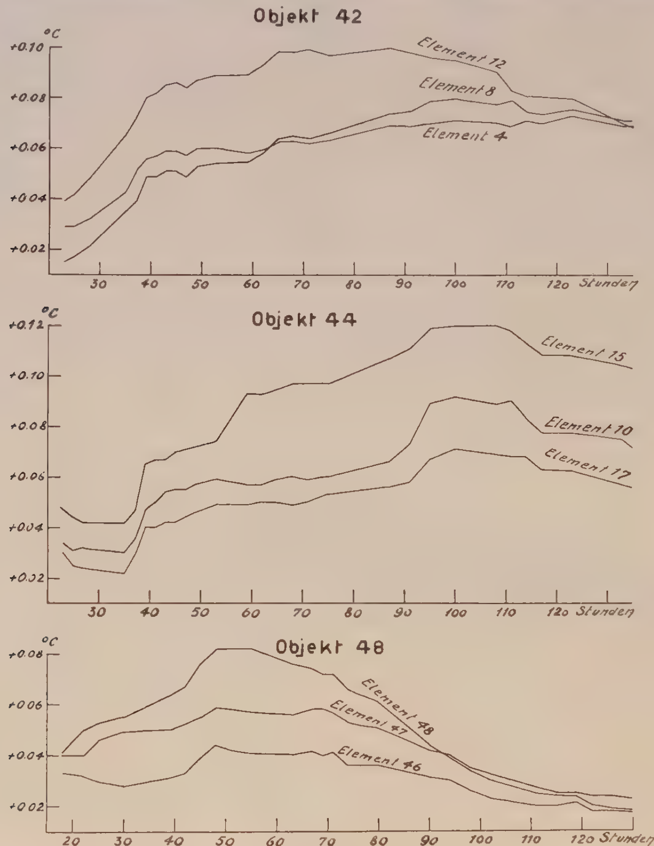


Abb. 19.
Temperaturkurven bei halbierten, infizierten Knollen.

webe solcher Knollen keinen geeigneten Boden für die Entwicklung des *Bacillus phytophthorus* boten. Anders stellten sich die Versuche mit den in Chloroformdämpfen abgetöteten Knollen.

Zum Behandeln der Knollen mit Chloroform wurden sie halbiert und unter eine Glasglocke von etwa 17 l Inhalt versetzt. Man stellte sie auf ein Drahtgitter, dem als Unterlage eine breite Glasschale diente. Am Stopfen der Glasglocke war eine Petrischale angehängt, die durch eine abschließbare Glasröhre im Stopfen der Glocke mit Chloroform nachgefüllt werden konnte. Die Glocke ruhte auf einer Glasplatte. Der Glockenrand war mit Vakuumhahnenfett abgedichtet. Die Atmosphäre im Glockenraum wurde mit Chloroformdampf gesättigt gehalten. Nach Abschluß der

Narkose stellte man die Knollen vier bis fünf Stunden ins Freie. Darauf desinfizierte man sie nochmals mit Formaldehyd, trocknete mit Alkohol und stellte sie in die Drahtgitter-Verbandstoffzellen des Versuchskastens. Nach 45 bis 50 Stunden wurde die eine Hälfte mit *Bacillus phytophthorus* infiziert und beide Hälften einer Knolle mit Thermoelementen verbunden.

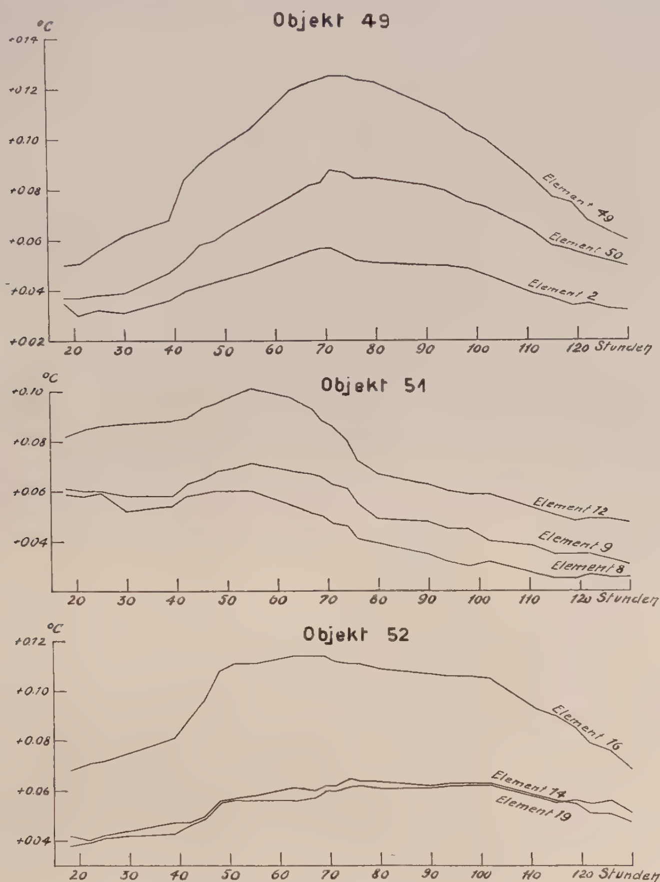


Abb. 20.
Temperaturkurven bei halbierten, infizierten Knollen.

Die thermischen Vorgänge in den mit Chloroform behandelten Knollen zeigten viele Unregelmäßigkeiten. Beispielsweise eine Knolle, die 24 Stunden mit Chloroform behandelt war, erzeugte nach Infektion sehr regelmäßige Temperatursteigerungen mit einem Maximum von 0,08597° C. Die thermischen Vorgänge in den übrigen, auf gleiche Weise behandelten Knollen, konnten keiner Gesetzmäßigkeit unterbracht werden. Offenbar war die Narkose nicht genügend andauernd gewesen, um die Gewebe vollständig abzutöten. Man könnte annehmen, daß gewisse Teile der Gewebe abgetötet waren, bei den anderen kamen Reiz- oder Hemmungswirkungen

zum Vorschein. Auch 120 stündige Narkose gab ähnliche unbestimmte Resultate. Durch 160 stündige und länger andauernde Narkose gerieten die Knollen zuletzt in einen solchen Zustand, daß sie bei Infektion keine wesentlichen Temperatursteigerungen mehr aufwiesen, obgleich der Infektionsprozeß verhältnismäßig schneller vor sich ging, als bei lebenden Knollen. Es trat aber auch bei diesen Objekten keine absolute Ruhelage ein. Die Temperaturdifferenzen schwankten im Bereiche von tausendstel Graden und traten als Steigerungen oder Erniedrigungen zum Vorschein.

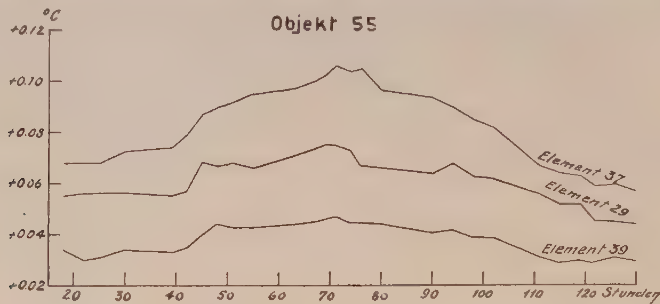


Abb. 21.
Temperaturkurven bei halbierter, infizierter Knolle.

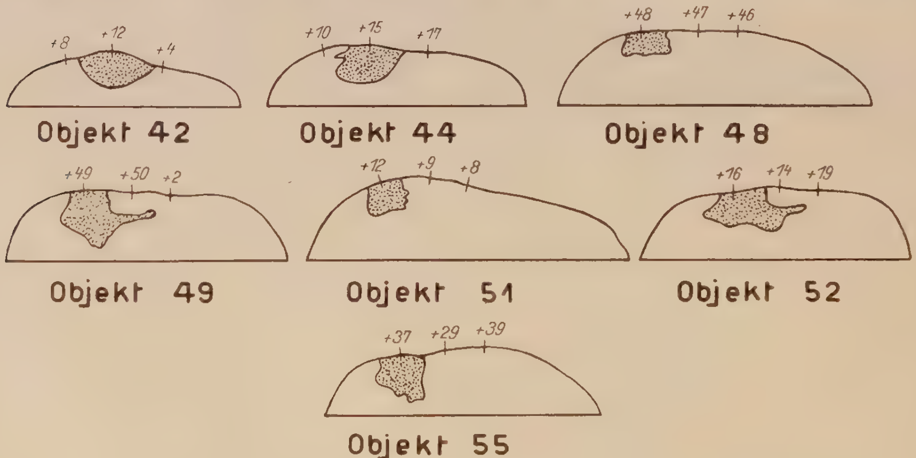


Abb. 22.
Anlage der Thermoelemente und die Infektionsstufen bei halbierten infizierten Knollen. Hälfte natürlicher Größe.
(Zu den Abb. 19—21.)

In der Tabelle 5 sind die Temperaturmessungen an halbierten infizierten Knollen nach 600 stündiger Narkose wiedergegeben. Die Empfindlichkeit der Thermoelemente betrug 0,00146—0,00162° C je 1 mm der Skalateilung. Die Temperaturkurven sind in Abb. 23 dargestellt. Die Anlage der Thermoelemente und die erreichten Infektionsstufen sind aus der Abb. 24 zu ersehen.

Tabelle 5.

Ergebnisse der Temperaturmessungen an halbierten, nach 600 stündiger Chloroformnarkose infizierten Knollen. (Versuch 5.)

Temperaturdifferenzen in ° C.

Stunden nach Infektion	Objekt 126 Element 2	Objekt 127 Element 3	Objekt 128 Element 4	Objekt 129 Element 5	Objekt 130 Element 6	Objekt 131 Element 7	Objekt 132 Element 10
12	+ 0,00117	+ 0,00324	+ 0,00521	+ 0,00302	+ 0,00048	— 0,00142	— 0,00213
14	+ 0,00438	+ 0,00583	+ 0,00506	+ 0,00544	+ 0,00432	— 0,00284	— 0,00213
16	+ 0,00599	+ 0,00616	+ 0,00585	+ 0,00393	+ 0,00496	— 0,00316	— 0,00076
18	+ 0,00540	+ 0,00632	+ 0,00616	± 0	+ 0,00416	— 0,00111	— 0,00106
23	+ 0,00453	+ 0,00405	+ 0,00363	+ 0,00408	+ 0,00480	— 0,00221	— 0,00304
25	+ 0,00131	+ 0,00389	— 0,00111	+ 0,00242	+ 0,00336	— 0,00111	— 0,00076
36	+ 0,00015	— 0,00065	— 0,00126	— 0,00030	— 0,00176	— 0,00316	— 0,00015
38	+ 0,00234	+ 0,00178	— 0,00316	— 0,00196	+ 0,00240	— 0,00284	— 0,00091
40	+ 0,00482	+ 0,00632	— 0,00174	+ 0,00015	+ 0,00176	— 0,00095	— 0,00182
43	+ 0,00409	+ 0,00502	— 0,00079	— 0,00091	— 0,00064	— 0,00158	— 0,00258
45	+ 0,00248	+ 0,00437	— 0,00111	— 0,00030	— 0,00160	— 0,00126	— 0,00198
60	± 0	+ 0,00227	— 0,00205	— 0,00287	+ 0,00032	— 0,00221	— 0,00106
62	+ 0,00336	+ 0,00535	— 0,00032	— 0,00181	— 0,00144	— 0,00158	— 0,00015
64	+ 0,00307	+ 0,00340	— 0,00095	— 0,00060	— 0,00176	— 0,00300	— 0,00106
69	+ 0,00161	+ 0,00243	— 0,00269	— 0,00196	+ 0,00464	— 0,00158	— 0,00286

E. Besprechung der in gesunden und erkrankten Geweben gemessenen Temperaturen.

Die Temperaturmessungen an gesunden ganzen und gesunden halbierten Knollen ergeben, daß die Temperatur in den Geweben einer Knolle überall annähernd die gleiche ist. Absolute Temperaturgleichheit konnte nicht festgestellt werden. In Normalfällen schwankten die Temperaturdifferenzen im Bereich von zehntausendstel Grad Celsius. Diese Größen waren an den Ausschlägen des Galvanometers nicht sicher meßbar und mußten geschätzt werden. Nur in Ausnahmefällen wurden größere Differenzen festgestellt, die im Bereiche einiger Tausendstel Grad Celsius schwankten. Diese Messungen begründen die Brauchbarkeit der gewählten Methode, bei der die Temperatursteigerungen in den erkrankten Geweben auf die Temperatur der gesunden Gewebe derselben Knolle, als auf den Nullpunkt bezogen wurden.

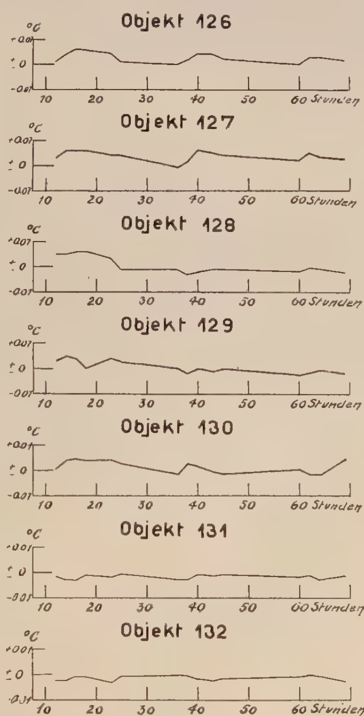


Abb. 23.
Temperaturkurven bei halbierten, abgetöteten, infizierten Knollen. (Zur Tabelle 5.)

Die Ergebnisse der Messungen an ganzen infizierten und halbierten, an der einen Hälfte infizierten Knollen erbringen den Nachweis, daß durch Infektion wesentliche Temperatursteigerungen hervorgerufen werden. Die Messungen mit mehreren an einem Objekt angebrachten Thermoelementen zeigen, daß nach erfolgter Infektion in der ganzen Knolle thermische Veränderungen vor sich gehen und daß Temperatursteigerungen, die wohl wesentlich kleiner sind als an den Angriffsstellen, auch in den weiter entlegenen Gewebeteilen stattfinden. Auf Grund dieser Erscheinung ist es erklärlich, weshalb bei Messungen an ganzen Knollen an einer Infek-

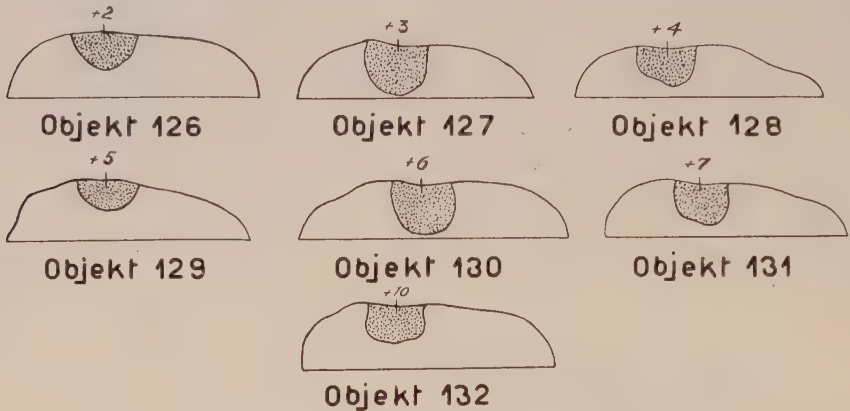


Abb. 24.
Anlage der Thermoelemente und die Infektionsstufen bei abgetöteten Knollen.
Hälfte natürlicher Größe.
(Zu Tabelle 5 und Abb. 23.)

tionsstelle verschiedene Größen von Temperatursteigerungen festgestellt wurden, in Abhängigkeit davon, in wie weiter Entfernung die „— Pole" der Thermoelemente vom Infektionsherd angebracht waren.

Der Verlauf der Temperaturveränderungen bildet eine ansteigende Kurve, deren maximale Höhe bei ganzen Knollen nach 50 bis 75 Stunden, bei halbierten Knollen nach 55 bis 100 Stunden erreicht wurde. Danach nahm die Temperatur in allen Teilen der Knollen allmählich wieder ab. Die höchste Temperatursteigerung bei halbierten infizierten Knollen betrug 0,11995° C.

Bei Messungen an Knollen, die mit genügend andauernder Chloroformnarkose abgetötet waren, konnten keine durch Infektion hervorgerufene Temperatursteigerungen nachgewiesen werden, obgleich das Vorschreiten der Infektion verhältnismäßig schneller vor sich ging, als in den lebenden Geweben. Diese Feststellung bringt den Nachweis, daß die Temperatursteigerungen bei lebenden infizierten Knollen nicht durch den Abbau der Stoffe seitens des Parasiten hervorgerufen werden, sondern daß sie auf der Reaktion der lebenden Gewebe der Wirtspflanze beruhen.

4. Die Kohlensäureabgabe gesunder und erkrankter Gewebe.

Bei den nachstehenden Versuchen wurde die Kohlensäureabgabe gesunder und kranker Gewebe und die durch Infektion hervorgerufenen Temperatursteigerungen zu gleicher Zeit gemessen. Als Versuchsobjekte dienten bei den Versuchen 6 bis 8 halbierte Knollen der Sorte „Kaiserkrone", vorjähriger Ernte, bei den Versuchen 9 und 10 „Fischli", diesjähriger Ernte. Der Vorrat der Versuchsobjekte stand wie üblich im Thermostaten bei + 6 — 8° C.

Versuch 6, Objekt 133. Infektionsstelle innerhalb des Rezipienten. 80 Stunden vor der Durchführung der Infektion wurde eine Knolle der Sorte „Kaiserkrone" in Formaldehydlösung desinfiziert, halbiert, an die Rezipienten angekittet und in die Drahtgitter-Verbandstoffzelle des Versuchskastens gestellt. Nach 80 Stunden wurde die eine Hälfte mit vier Stichen durch den Tubus des Rezipienten mit *Bacillus phytophthorus* aus einer sechs Tage alten Kultur infiziert, darauf der Tubus dicht verschlossen, das Objekt durch die Kanüle des Rezipienten mit dem + Pol eines Thermoelementen versehen und die Kanüle verkittet. Das Gleiche geschah mit der anderen Hälfte der Knolle. Statt der Infektion erhielt sie vier sterile Stiche und den — Pol desselben Thermoelementes. Außerhalb der Rezipienten wurden noch zwei Thermoelemente in Entfernung von 1 und 2 cm

Tabelle 6.

Ergebnisse der Temperatur- und Kohlensäuremessungen an halbierter mit *Bac. phytophthorus* infizierter Knolle der Sorte Kaiserkrone. (Versuch 6. Objekt 133.)

Temperaturdifferenzen in ° C, Kohlensäureabgabe der gesunden Gewebe in mg, der infizierten Gewebe in %, bezogen auf die Abgabe der gesunden Gewebe.

Stunden nach der Infektion	Temperaturdifferenzen in ° C			Kohlensäureabgabe	
	Element 7	Element 3	Element 5	gesunder Gewebe mg	erkrankter Gewebe %
2	+ 0,00251	+ 0,01428	+ 0,00718	—	—
7	+ 0,01737	+ 0,01775	+ 0,00407	0,388	89,88
12	+ 0,03493	+ 0,02611	+ 0,00582	0,379	163,31
17	+ 0,05211	+ 0,03346	+ 0,00757	0,386	289,31
22	+ 0,06350	+ 0,03998	+ 0,01106	0,406	425,56
27	+ 0,05172	+ 0,03652	+ 0,00989	0,451	361,62
32	+ 0,04825	+ 0,03611	+ 0,00970	0,445	341,23
37	+ 0,04729	+ 0,03284	+ 0,00931	0,469	297,51
42	+ 0,05713	+ 0,03815	+ 0,01533	0,421	424,98
47	+ 0,06948	+ 0,05059	+ 0,02328	0,407	448,23
52	+ 0,07353	+ 0,05957	+ 0,02794	0,424	437,28
57	+ 0,08106	+ 0,06916	+ 0,03143	0,449	439,75
62	+ 0,08936	+ 0,07772	+ 0,03647	0,451	467,63
67	+ 0,09322	+ 0,07936	+ 0,03398	0,455	437,28
72	+ 0,09573	+ 0,08915	+ 0,03667	0,462	403,42
77	+ 0,09747	+ 0,09384	+ 0,03996	0,462	401,36
82	+ 0,11059	+ 0,10343	+ 0,05432	0,460	341,79
87	+ 0,10982	+ 0,10465	+ 0,05762	—	—

von der Infektionsstelle angebracht. Die + Pole befanden sich an der infizierten, die — Pole an der gesunden Hälfte. Darauf schloß man die Rezipienten an die Luftleitung, verband sie mit den Absorptionsgefäßen, bedeckte die Drahtgitterkammer mit wasserdurchtränktem Verbandstoff und schloß den Versuchskasten. Nach zwei Stunden bestimmte man den ersten Ausschlag des Galvanometers und ließ zehn Minuten den Luftstrom laufen, ohne die Luft in die Absorptionsgefäße zu leiten. Darauf wurde die Luft durch entsprechende Drehung der Dreiweghähne, in die Absorptionsgefäße geleitet und die Luftstromgeschwindigkeit durch Abdrosseln der Vakuumschläuche mit den Präzisionsquetschhähnen auf 2 bis 3 ccm

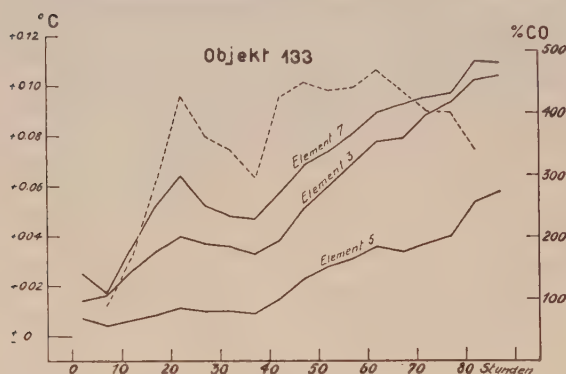


Abb. 25.
Temperatur- und Kohlensäurekurven zum Versuch 6, Objekt 133.
——— Temperaturkurven.
— — — Kohlensäurekurve.

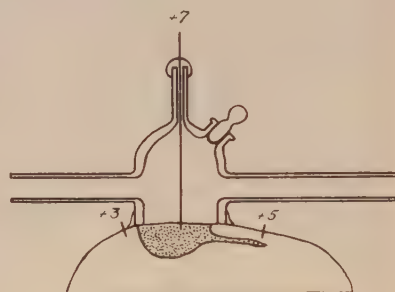


Abb. 26.
Anlage der Thermoelemente und der Rezipienten. Infektionstufe bei Versuch 6.
Hälfte natürlicher Größe.

die Minute eingestellt. Nach fünf Stunden wurden die Galvanometerausschläge gemessen, die Absorptionsgefäße gewechselt und die Titrationen durchgeführt.

In Tabelle 6 sind die Ergebnisse der Temperatur- und Kohlensäuremessungen zusammengefaßt. Die an die infizierten Gewebe abgegebenen Kohlensäuremengen sind in Prozent, bezogen auf die ausgeschiedenen Kohlensäuremengen der gesunden Gewebe, ausgedrückt. Die Oberflächen der Gewebe, an denen die Kohlensäureabgaben gemessen wurden, ließen sich nicht völlig präzise berechnen, da sie ihrer Form nach zwischen ebener und sphärischer Fläche lagen. Ihre Größe betrug annähernd 2,99 qcm. Da für die Messungen Knollen mit möglichst ebenen und gleichen Oberflächen gewählt wurden, konnten die Abweichungen von dieser angenommenen Größe nur sehr gering sein und wurden bei der Auswertung der gewonnenen Zahlen nicht in Betracht gezogen. Abb. 25 gibt die Temperatur- und Kohlensäurekurven graphisch wieder. Aus Abb. 26 ersieht man die Anlage der Thermoelemente und die Infektionsstufe beim Abschluß des Versuches.

Ein Beispiel soll die Berechnung der Kohlensäureabgabe erläutern.

5 ccm der annähernd 1/10 n Barytlauge entsprachen 11,683 ccm der annähernd 1/20 n Salzsäure.

Faktor der Säure 0,9646.

Titer der Lauge nach Absorption der Kohlensäure 9,695 ccm der annähernd 1/20 n Salzsäure.

Differenz des Titers 1,988 ccm annähernd 1/20 n Salzsäure.

1,988 ccm $\times$ Faktor 0,9646 = 1,9176 ccm exakt 1/20 n Salzsäure.

1 ccm 1/20 n Salzsäure entspricht 1,1 mg Kohlensäure.

Die in fünf Stunden von den infizierten Geweben abgegebene Kohlensäuremenge = 2,109 mg.

Zur selben Zeit an der gesunden Hälfte abgegebene Kohlensäuremenge = 0,451 mg.

Prozent der abgegebenen Kohlensäuremenge der infizierten Gewebe, bezogen auf die Abgabe der gesunden Gewebe $= \frac{2{,}109 \times 100}{0{,}451} = 467{,}63\,\%$.

Tabelle 7.

Ergebnisse der Temperatur- und Kohlensäuremessungen an halbierter, mit *Bac. phytophthorus* infizierter Knolle der Sorte Kaiserkrone. (Versuch 7. Objekt 134.)

Temperaturdifferenzen in ° C, Kohlensäureabgabe der gesunden Gewebe in mg, der infizierten Gewebe in %, bezogen auf die Abgabe der gesunden Gewebe.

Stunden nach der Infektion	Temperaturdifferenzen in ° C			Kohlensäureabgabe	
	Element 3	Element 5	Element 7	gesunder Gewebe mg	erkrankter Gewebe %
5	+ 0,01958	+ 0,00272	— 0,00367	0,640	86,57
10	+ 0,02244	+ 0,00989	+ 0,00425	0,474	144,74
15	+ 0,02244	+ 0,00989	+ 0,00637	0,380	175,70
20	+ 0,01897	+ 0,00695	+ 0,00598	0,377	176,90
25	+ 0,01795	+ 0,00427	+ 0,00560	0,365	150,29
30	+ 0,01979	+ 0,00640	+ 0,00733	0,342	159,32
35	+ 0,02468	+ 0,00931	+ 0,01023	0,361	157,06
40	+ 0,03080	+ 0,00989	+ 0,01119	0,353	165,17
45	+ 0,04039	+ 0,01183	+ 0,01100	0,333	183,76
50	+ 0,05651	+ 0,01998	+ 0,01621	0,332	200,96
55	+ 0,08017	+ 0,02716	+ 0,02316	0,336	214,20
60	+ 0,10424	+ 0,03861	+ 0,03281	0,334	240,00
65	+ 0,10771	+ 0,04113	+ 0,03879	0,347	371,56
70	+ 0,13321	+ 0,05451	+ 0,05365	0,333	733,44
75	+ 0,14158	+ 0,05180	+ 0,04748	0,346	723,93
80	+ 0,14015	+ 0,04947	+ 0,03667	0,352	763,86
85	+ 0,14015	+ 0,04675	+ 0,03551	0,335	957,91
90	+ 0,14015	+ 0,04540	+ 0,03628	0,348	913,72
95	+ 0,14015	+ 0,04190	+ 0,03435	0,351	917,82
100	+ 0,15994	+ 0,05607	+ 0,04381	0,349	998,78
105	+ 0,16136	+ 0,05568	+ 0,04439	0,348	960,37
110	+ 0,15769	+ 0,05141	+ 0,04227	0,352	936,45
115	+ 0,14606	+ 0,04481	+ 0,03957	0,347	561,16
120	+ 0,13668	+ 0,04326	+ 0,03725	0,346	258,91
125	+ 0,12852	+ 0,04074	+ 0,03493	0,353	231,23
130	+ 0,12240	+ 0,03880	+ 0,03339	0,350	234,24
135	+ 0,09649	+ 0,02891	+ 0,03127	0,346	73,70
140	+ 0,04814	+ 0,01164	+ 0,02169	0,348	31,10

Versuch 7, Objekt 134. Infektionsstelle innerhalb des Rezipienten. Versuchsobjekt 63 Stunden vor Beginn des Versuches halbierte Knolle der Sorte „Kaiserkrone". Infektionsmaterial *Bacillus phytophthorus* aus sechs Tage alter Kultur. Die ersten Temperatur- und Kohlensäuremessungen fünf Stunden nach Infektion. Das Übrige wie bei Versuch 6. Die Infektionsstufe beim Abschluß des Versuches sowie die Anlage der Thermoelemente und der Rezipienten sind in Abb. 28 dargestellt. Der + Pol des Thermoelementes 3 befand sich innerhalb des Rezipienten, an

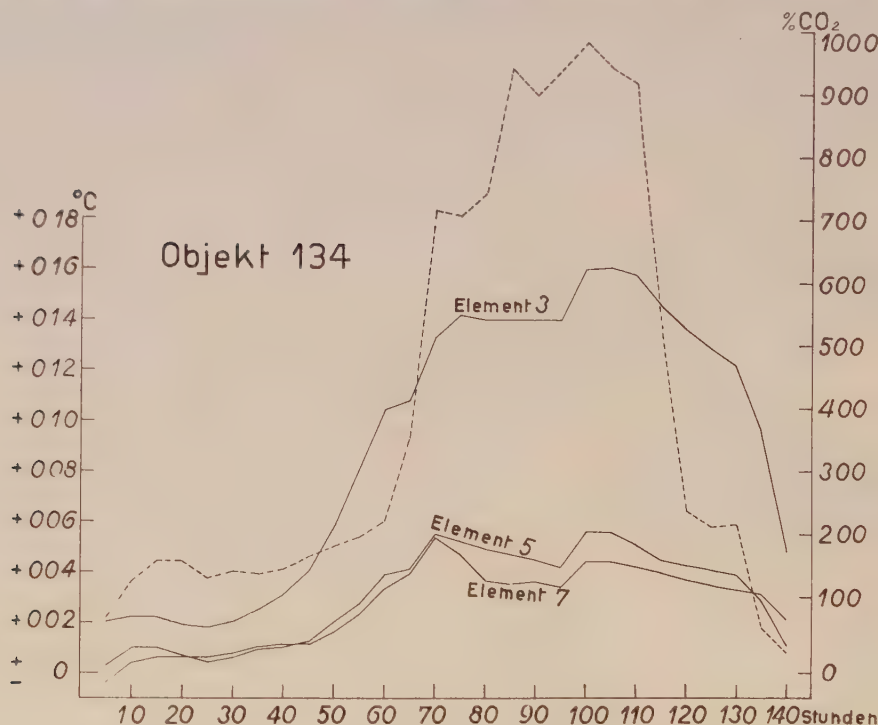


Abb. 27.
Temperatur- und Kohlensäurekurven zum Versuch 7, Objekt 134.
Temperaturkurven, — — — Kohlensäurekurve.

der Infektionsstelle, der — Pol innerhalb des anderen Rezipienten, an der sterilen Hälfte. Die übrigen Elemente außerhalb der Rezipienten, an die nicht infizierten Gewebe, in der Richtung zum Kronenende, Element 5, 2 cm, Element 7, 4 cm entfernt vom Element 3. Die Ergebnisse des Versuches sind aus der Tabelle 7 und Abb. 27 zu ersehen.

Versuch 8, Objekt 135. Infektionsstelle innerhalb des Rezipienten. Als Versuchsobjekt eine 64 Stunden vor Beginn des Versuches halbierte Knolle der Sorte „Kaiserkrone". Infektionsmaterial *Bacillus phytophthorus* aus acht Tage alter Kultur. Die erste Temperaturmessung sofort nach durchgeführter Infektion und Abschluß des Versuchskastens, die folgenden

Messungen nach je fünf Stunden. Das Übrige wie bei Versuch 6. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengefaßt. Abb. 29 veranschaulicht die thermischen Vorgänge in der infizierten Hälfte und die

Tabelle 8.

Ergebnisse der Temperatur- und Kohlensäuremessungen an halbierter, mit *Bac. phytophthorus* infizierter Knolle der Sorte Kaiserkrone. (Versuch 8. Objekt 135.)

Temperaturdifferenzen in ° C, Kohlensäureabgabe der gesunden Gewebe in mg, der infizierten Gewebe in %, bezogen auf die Abgabe der gesunden Gewebe.

Stunden nach der Infektion	Temperaturdifferenzen in ° C			Kohlensäureabgabe	
	Element 3	Element 5	Element 7	gesunder Gewebe mg	erkrankter Gewebe %
—	— 0,01836	— 0,02774	+ 0,00444	—	—
5	+ 0,02856	+ 0,01377	+ 0,01139	0,774	280,82
10	+ 0,05006	+ 0,02910	+ 0,02084	0,196	122,70
15	+ 0,06283	+ 0,03958	+ 0,02818	0,314	194,95
20	+ 0,09323	+ 0,04947	+ 0,04381	0,312	207,82
25	+ 0,10384	+ 0,05296	+ 0,05732	0,314	223,99
30	+ 0,10547	+ 0,05432	+ 0,05848	0,318	225,67
35	+ 0,10404	+ 0,05374	+ 0,06215	0,311	304,78
40	+ 0,10465	+ 0,04113	+ 0,06755	0,313	582,04
45	+ 0,09649	+ 0,02184	+ 0,06697	0,312	589,12
50	+ 0,08405	+ 0,01959	+ 0,05848	0,318	546,00
55	+ 0,07936	+ 0,01591	+ 0,04825	0,315	493,27
60	+ 0,08384	+ 0,02153	+ 0,04536	0,314	546,96
65	+ 0,08629	+ 0,02563	+ 0,04439	0,317	570,90
70	+ 0,08588	+ 0,02153	+ 0,04458	0,319	569,10
75	+ 0,08609	+ 0,01610	+ 0,04362	0,317	571,91
80	+ 0,09241	+ 0,01513	+ 0,04497	0,314	580,41
85	+ 0,10118	+ 0,01876	+ 0,04709	0,312	632,65
90	+ 0,10363	+ 0,02076	+ 0,05037	0,318	633,33
95	+ 0,10669	+ 0,02153	+ 0,05327	0,313	682,37
100	+ 0,10730	+ 0,02483	+ 0,05539	0,317	672,11
105	+ 0,11363	+ 0,02813	+ 0,05848	0,312	674,83
110	+ 0,11893	+ 0,03065	+ 0,06060	0,316	667,79
115	+ 0,12811	+ 0,02968	+ 0,06504	0,314	747,64
120	+ 0,13036	+ 0,03104	+ 0,06755	0,313	774,92
125	+ 0,13586	+ 0,03182	+ 0,07083	0,318	801,68
130	+ 0,13648	+ 0,03162	+ 0,07180	0,312	904,08
135	+ 0,13852	+ 0,03201	+ 0,06948	0,316	894,30
140	+ 0,14402	+ 0,03162	+ 0,07450	0,313	882,71
145	+ 0,14892	+ 0,03317	+ 0,07662	0,318	860,94
150	+ 0,15341	+ 0,03725	+ 0,08125	0,312	864,97
155	+ 0,15341	+ 0,03861	+ 0,07894	0,313	869,82
160	+ 0,15422	+ 0,03764	+ 0,07855	0,312	871,09
165	+ 0,15810	+ 0,03492	+ 0,07894	0,318	636,36
170	+ 0,17177	+ 0,03240	+ 0,08492	0,316	519,46
175	+ 0,13199	+ 0,03162	+ 0,08415	0,313	472,20
180	+ 0,12485	+ 0,03667	+ 0,08396	0,317	287,92
185	+ 0,09751	+ 0,03725	+ 0,06427	0,320	99,34
190	+ 0,05590	+ 0,03550	+ 0,05404	0,317	95,65
195	+ 0,05426	+ 0,03162	+ 0,05462	0,320	96,48
200	+ 0,04141	+ 0,02677	+ 0,05423	0,323	93,09
215	+ 0,02468	+ 0,02018	+ 0,04806	—	—
220	— 0,00102	+ 0,01707	+ 0,03146	—	—
225	— 0,00204	+ 0,01009	+ 0,02355	0,318	94,28

Kohlensäureabgabe an der Infektionsstelle. Abb. 30 zeigt die Infektionsstufe beim Abschluß des Versuches und die Anlage der Thermoelemente und der Rezipienten. Die Pole des Thermoelementes 3 waren innerhalb der Rezipienten angebracht. Thermoelement 7 2 cm entfernt vom Element 3 am Nabelende, Element 5 4 cm entfernt am Kronenende.

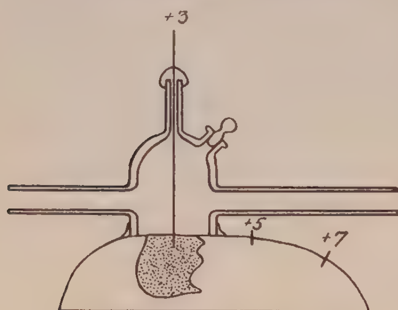


Abb. 28.
Anlage der Thermoelemente und der Rezipienten.
Die Infektionsstufe bei Versuch 7.
Hälfte natürlicher Größe.

Versuch 9, Objekt 136. Infektionsstelle innerhalb des Rezipienten. Versuchsobjekt frühe Speisekartoffel „Fischli“, 71 Stunden vor Beginn des Versuches halbiert. Infektionsmaterial *Bacillus phytophthorus* aus sieben Tage alter Kultur. Die erste Temperaturmessung sofort nach durchgeführter Infektion und Abschluß des Versuchskastens, die folgenden Messungen nach je fünf Stunden. Abb. 32 zeigt die Infektionsstufe beim Abschluß des Versuches und die Anlage der Thermoelemente und der Rezipienten. Element 5 am Nabelende, Element 3 am Kronenende, beide 4 cm entfernt von den Polen des Elementes 7, unweit der verkorkten Schnittfläche. Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle 9 und Abb. 31 zu ersehen.

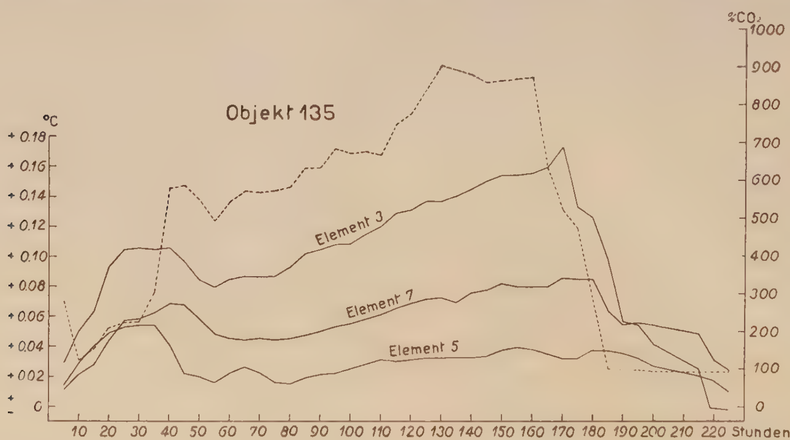


Abb. 29.
Temperatur- und Kohlensäurekurven zum Versuch 8, Objekt 135.
——— Temperaturkurven, — — — Kohlensäurekurven.

Versuch 10, Objekt 137. Die Infektionsstelle außerhalb des Rezipienten. Versuchsobjekt frühe Speisekartoffel „Fischli“, 71 Stunden vor Beginn des Versuches halbiert. Infektionsmaterial *Bacillus phytophthorus* aus fünf Tage alter Kultur. Die erste Temperaturmessung sofort nach durchgeführter Infektion und Abschluß des Versuchskastens. Die folgenden

Tabelle 9.

Ergebnisse der Temperatur- und Kohlensäuremessungen an halbierter, mit *Bac. phytophthorus* infizierter Knolle der Sorte Fischli. (Versuch 9. Objekt 136.)

Temperaturdifferenzen in °C, Kohlensäureabgabe der gesunden Gewebe in mg, der infizierten Gewebe in %, bezogen auf die Abgabe der gesunden Gewebe.

Stunden nach der Infektion	Temperaturdifferenzen in °C			Kohlensäureabgabe	
	Element 7	Element 3	Element 5	gesunder Gewebe mg	erkrankter Gewebe %
—	+ 0,00386	+ 0,00592	+ 0,00388	—	—
5	+ 0,01274	+ 0,01000	— 0,00136	0,146	362,22
10	+ 0,01698	+ 0,00938	— 0,00194	0,156	678,91
15	+ 0,01988	+ 0,00714	— 0,00194	0,193	614,29
20	+ 0,02567	+ 0,01081	— 0,00291	0,191	666,67
25	+ 0,03567	+ 0,01428	— 0,00340	0,180	732,35
30	+ 0,02528	+ 0,01428	— 0,00194	0,189	701,12
35	+ 0,02316	+ 0.01326	— 0,00155	0,172	744,44
40	+ 0,02593	+ 0,01428	— 0,00116	0,175	726,06
45	+ 0,02702	+ 0,01469	+ 0,00039	0,170	715,63
50	+ 0,03300	+ 0,01693	+ 0,00407	0,168	702,53
55	+ 0,03242	+ 0,01632	+ 0,00078	0,174	558,54
60	+ 0,02992	+ 0.01285	± 0	0,180	470,00
65	+ 0,02895	+ 0,01204	— 0,00039	0,178	436,90
70	+ 0,02779	+ 0,01142	— 0,00253	0,184	362,44
75	+ 0,02856	+ 0,01204	— 0,00194	0,177	346,11
80	+ 0,02007	+ 0,01163	— 0,00155	0,189	321,91
85	+ 0,01563	+ 0,01204	— 0,00058	0,185	325,71
90	+ 0,01409	+ 0,01040	— 0,00136	0,174	341,46
95	+ 0,01467	+ 0,01142	— 0,00136	0,168	352,53
100	+ 0,02316	+ 0,01285	— 0,00116	0,180	282,94
105	+ 0,02895	+ 0,01795	— 0,00194	0,178	219,05
110	+ 0,03783	+ 0,02448	— 0,00175	0,187	187,90
115	+ 0,04671	+ 0,02448	— 0,00039	0,180	288,17
120	+ 0,05385	+ 0,02244	± 0	0,175	421,82
125	+ 0,06176	+ 0,02326	+ 0,00407	0,178	690,48
130	+ 0,06311	+ 0,02081	+ 0,00621	0,181	836,84
135	+ 0,06427	+ 0,01734	+ 0,00601	0,176	883,73
140	+ 0,06562	+ 0,01387	+ 0,00795	0,178	885,71
145	+ 0,07585	+ 0,01040	+ 0,00621	0,188	941,24
150	+ 0,06948	+ 0,00612	+ 0,00233	0,185	1000,57
155	+ 0,06659	+ 0,00245	+ 0,00213	0,185	1009,20
160	+ 0,06404	+ 0,00102	+ 0,00058	0,174	1063,41
165	+ 0,06099	+ 0,00184	— 0,00039	0,175	950,30
170	+ 0,05558	+ 0,00102	— 0,00039	0,172	828,39
175	+ 0,04555	— 0,00041	— 0,00233	0,178	772,62
180	+ 0,03455	— 0,00755	— 0,00776	0,185	730,29
185	+ 0,02528	— 0,01000	— 0,01319	0,176	748,80
190	+ 0,01737	— 0,01346	— 0,01785	0,184	657,23
195	+ 0,01370	— 0,01244	— 0,01824	0,189	541,01
200	+ 0,01158	— 0,01224	— 0,01846	0,188	512,99
205	+ 0,00907	— 0,01265	— 0,01940	0,185	425,71
210	+ 0,00811	— 0,01224	— 0,02018	0,179	300,00
215	+ 0,00637	— 0,01163	— 0,02173	0,188	242,37
220	+ 0,00579	— 0,01163	— 0,02153	0,178	131,55
225	+ 0,00222	— 0,01163	— 0,02134	0,179	88,76

Messungen nach je fünf Stunden. Abb. 34 zeigt die Infektionsstufe beim Abschluß des Versuches und die Anlage der Thermoelemente und der Rezipienten. Beide Rezipienten also an nicht infizierten Geweben. Der + Pol des Elementes 7 an der Infektionsstelle außerhalb des Rezipienten, am Kronenende der einen Hälfte der Knolle, der — Pol am gleichen Ende der sterilen Hälfte. Element 5 innerhalb der Rezipienten, 2 cm entfernt vom Element 7, an nicht infizierten Geweben, Element 3 5 cm entfernt vom Element 7 an den Nabelenden. Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle 10 und Abb. 33 zu ersehen.

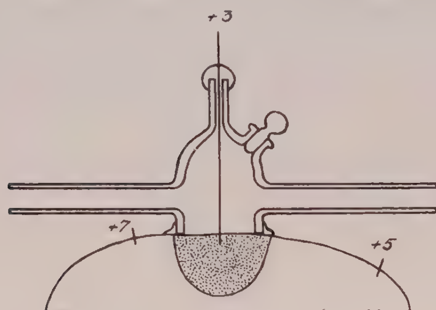


Abb. 30.
Die Infektionsstufe beim Abschluß des Versuches 8. Anlage der Thermoelemente und der Rezipienten. Hälfte der natürlichen Größe.

Die Kohlensäuremessungen an halbierten infizierten Knollen ergeben, daß die Kohlensäureabgabe in den angegriffenen Geweben einer erheblichen Steigerung unterliegt. Im Versuch 6, Objekt 133 tritt das Maximum der Kohlensäureabgabe schon nach 60 Stunden ein und beträgt 467 % der Kohlensäureabgabe der gesunden Gewebe. Beim Versuch 7, Objekt 134 tritt das Maximum nach 100 Stunden ein und erreicht 999 %, beim Versuch 8, Objekt 135 nach 130 Stunden mit 904 %, beim Versuch 9, Objekt 136 nach 160 Stunden mit 1063 %. Darauf sinkt die Kohlensäureabgabe schnell bis unter die Norm der gesunden Gewebe.

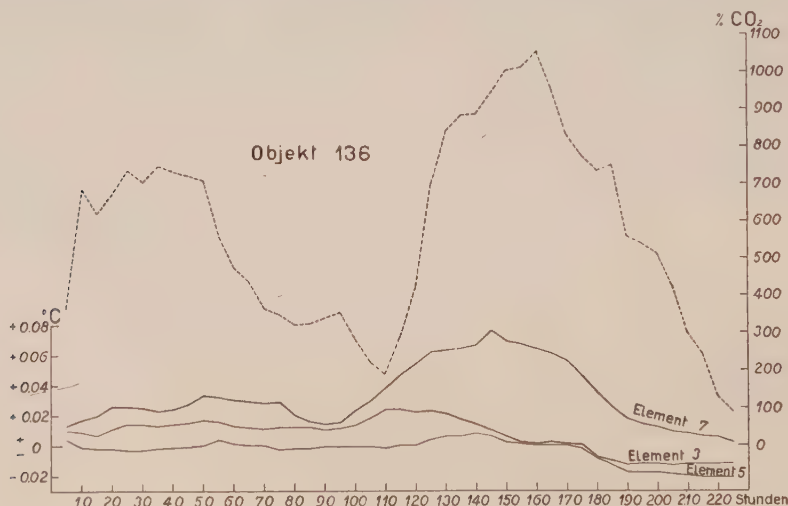


Abb. 31.
Temperatur- und Kohlensäurekurven zum Versuch 9, Objekt 136.
——— Temperaturkurven, — — — Kohlensäurekurve.

Die Kohlensäureabgabe der gesunden Gewebe ist bei den zwei angewandten Sorten verschieden. Bei der Sorte „Kaiserkrone“ schwankt sie im Bereich von 0,31—0,47 mg in fünf Stunden. Bei „Fischli“ ist sie erheblich niedriger und beträgt 0,17—0,20 mg. Diese großen Differenzen beruhen wohl teilweise auf Sorteneigentümlichkeiten, teilweise vielleicht auf Provenienz und dem Alter der Knollen. Die Knollen der Sorte „Kaiserkrone“ stammten von der Ernte des Jahres 1931, die der „Fischli“ von 1932. Auch die Temperatursteigerungen bei der Sorte „Kaiserkrone“ sind erheblich größer und erreichen im Versuch 8 0,17177° C. Bei „Fischli“ ist die höchsterzielte Temperatursteigerung

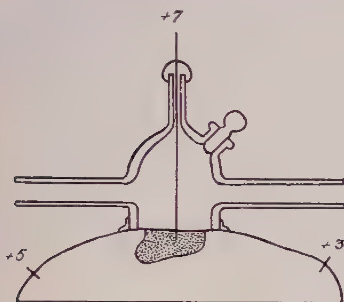


Abb. 32.
Die Infektionsstufe beim Abschluß des Versuches 9. Anlage der Thermoelemente und der Rezipienten. Hälfte natürlicher Größe.

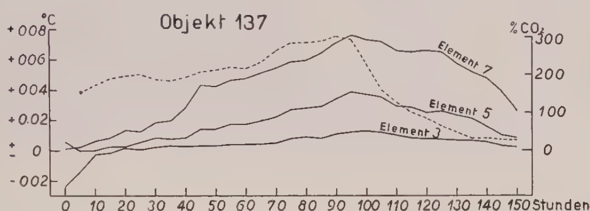


Abb. 33.
Temperatur- und Kohlensäurekurven zum Versuch 10, Objekt 137.
——— Temperaturkurven, — — — Kohlensäurekurve.

im Versuch 4, Objekt 38, und beträgt nur 0,11995° C. Die ausgeprägte Zweigipfligkeit der Kohlensäurekurve im Versuch 9, Objekt 136, ist wohl auf den unregelmäßigen Verlauf der Infektion zu Beginn des Versuches zurückzuführen. Relativ ist die Steigerung der Kohlensäureabgabe der infizierten Gewebe bei den beiden Sorten annähernd gleich.

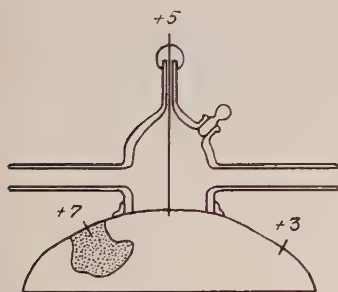


Abb. 34.
Die Infektionsstufe beim Abschluß des Versuches 10. Anlage der Thermoelemente und der Rezipienten. Hälfte natürlicher Größe.

Die Temperatur- und Kohlensäurekurven verlaufen nicht ganz parallel. Dieses war bei der angewandten Methode auch zu erwarten, da die gemessenen Kohlensäuremengen einen absoluten Wert von fünfstündiger Produktion darstellen, die Temperaturmessungen dagegen nur die Differenzen zum Moment der Messungen angeben.

Versuch 10, Objekt 137, mit der Infektionsstelle außerhalb des Rezipienten, bringt den Nachweis, daß auch in den scheinbar gesunden Geweben, außerhalb des Infektionsherdes, eine erhöhte Kohlensäureabgabe stattfindet. Infolgedessen ist anzunehmen, daß auch die Tem-

peratursteigerungen in diesen Geweben nicht auf mechanischer Ausbreitung der Wärme vom Infektionsherd beruhen, sondern daß bei der Infektion ein physiologischer Prozeß stattfindet, der auch die vom Parasiten nicht direkt angegriffenen Gewebe der Wirtspflanze in Anspruch nimmt.

Aus den vorstehenden Versuchen lassen sich noch keine endgültigen Schlüsse zu einer Theorie der Temperatursteigerungen und der erhöhten Kohlensäureabgabe ziehen. Im gegebenen Falle scheint die von Schellenberg wie auch Palladin, Fischer und Gäumann, 1929, S. 372, vertretene Anschauung sich zu bestätigen, daß es sich bei der Infektion um Stoffwechselprodukte oder toxische Stoffe handelt, die vom Parasiten aus-

Tabelle 10.

Ergebnisse der Temperatur- und Kohlensäuremessungen an halbierter, mit *Bac. phytophthorus* infizierter Knolle der Sorte Fischli. (Versuch 10. Objekt 137.)

Temperaturdifferenzen in °C, Kohlensäureabgabe der gesunden Gewebe in mg, der durch Infektion beeinflußten Gewebe in %, bezogen auf die Abgabe der gesunden Gewebe.

Stunden nach der Infektion	Temperaturdifferenzen in °C			Kohlensäureabgabe	
	Element 7	Element 5	Element 3	gesunder Gewebe mg	von d. Infektion beeinflußter Gewebe %
—	+ 0,00058	+ 0,00601	— 0,02448	—	—
5	+ 0,00174	± 0	— 0,01428	0,229	152,31
10	+ 0,00579	+ 0,00019	— 0,00326	0,205	170,46
15	+ 0,00772	+ 0,00175	— 0,00204	0,197	187,10
20	+ 0,01312	+ 0,00233	+ 0,00163	0,195	197,28
25	+ 0,01158	+ 0,00504	+ 0,00041	0,192	200,00
30	+ 0,01756	+ 0,00776	+ 0,00224	0,195	189,62
35	+ 0,01853	+ 0,00679	+ 0,00265	0,188	182,48
40	+ 0,02799	+ 0,00834	+ 0,00245	0,191	192,22
45	+ 0,04304	+ 0,01416	+ 0,00265	0,188	207,34
50	+ 0,04246	+ 0,01358	+ 0,00329	0,180	213,53
55	+ 0,04632	+ 0,01688	+ 0,00408	0,177	219,76
60	+ 0,04748	+ 0,01688	+ 0,00388	0,180	214,71
65	+ 0,05057	+ 0,01921	+ 0,00428	0,184	233,53
70	+ 0,05365	+ 0,02192	+ 0,00530	0,178	264,29
75	+ 0,05848	+ 0,02658	+ 0,00836	0,180	282,35
80	+ 0,05922	+ 0,02774	+ 0,00877	0,185	281,33
85	+ 0,06369	+ 0,02949	+ 0,00836	0,183	288,95
90	+ 0,07122	+ 0,03414	+ 0,01122	0,177	298,80
95	+ 0,07604	+ 0,03861	+ 0,01244	0,180	292,35
100	+ 0,07334	+ 0,03686	+ 0,01346	0,178	228,69
105	+ 0,07257	+ 0,03473	+ 0,01224	0,177	158,68
110	+ 0,06639	+ 0,02871	+ 0,00979	0,184	128,07
115	+ 0,06533	+ 0,02755	+ 0,00836	0,187	98,30
120	+ 0,06562	+ 0,02522	+ 0,00755	0,185	82,18
125	+ 0,06533	+ 0,02561	+ 0,00673	0,177	63,47
130	+ 0,05674	+ 0,02309	+ 0,00653	0,175	49,70
135	+ 0,05230	+ 0,02056	+ 0,00612	0,178	33,93
140	+ 0,04786	+ 0,01610	+ 0,00551	0,175	33,93
145	+ 0,03918	+ 0,00970	+ 0,00326	0,178	29,17
150	+ 0,02567	+ 0,00757	+ 0,00265	0,176	28,92

geschieden werden und die auf die Gewebe der Wirtspflanze ähnlich den Narkotika einwirken. Schwache Dosen dieser Stoffe, die zu Beginn der Infektion auf die Gewebe einwirken, rufen Reizwirkungen hervor, die gesteigerte Kohlensäureabgabe auslösen, stärkere Dosen, die beim Vorschreiten der Infektion entstehen, wirken dagegen hemmend.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Es wird eine Apparatur und Methode zur Messung von Temperaturdifferenzen und Kohlensäureabgabe an infizierten Kartoffelknollen beschrieben. Die Temperaturdifferenzen werden auf elektrometrischem Wege gemessen, die Kohlensäureabgabe wird durch Titration bestimmt.

2. Die Infektion mit *Bacillus phytophthorus* ruft wesentliche Temperatursteigerungen in infizierten Geweben hervor. Diese Temperatursteigerungen sind mit erhöhter Kohlensäureabgabe begleitet.

3. Die Temperatursteigerungen und die erhöhte Kohlensäureabgabe treten nicht nur in den angegriffenen Geweben auf, sondern es werden alle Gewebe der infizierten Knolle in Mitleidenschaft gezogen. Am stärksten macht sich jedoch diese Erscheinung am Infektionsherd bemerkbar.

4. Die erhöhte Kohlensäureabgabe und die Temperatursteigerungen sind keine andauernden Erscheinungen. Nach gewisser Zeitspanne, die bei allen Objekten nicht die gleiche ist, tritt Depression ein, die sich sowohl auf die direkt angegriffenen, wie auch auf die scheinbar gesunden Gewebe bezieht.

5. Diese Erscheinung beruht offenbar auf toxischen Stoffen, die vom Parasiten ausgeschieden werden und die auf die Gewebe der Wirtspflanze einwirken.

Zitierte Literatur.

Evans, I. B. P. and M. P., 1922. Rise in Temperature of Living Plant Tissue when infected by Parasitic Fungus. Nature, CX, S. 480—481.

Fischer, Ed. und Gäumann, E., 1929. Biologie der pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze.

Gaßner, G. und Goeze, G., 1932. Über den Einfluß der Kaliernährung auf die Assimilationsgröße von Weizenblättern. Festschrift zur Feier des 50jährigen Bestehens der Deutschen Botanischen Gesellschaft, La, S. 412—483.

Lieb, H. und Krainick, H. G., 1931. Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung. Mikrochemie, Jahrgang IX, Neue Folge, Band III, S. 367—384.

Pregl, Fr., 1930. Die quantitive organische Mikroanalyse.

Tiessen, H., 1912. Über die im Pflanzengewebe nach Verletzung auftretende Wundwärme. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, 11, S. 53—106.

Tobler, Fr., 1931, Untersuchungen über Immunität und Immunisierung im Pflanzenreich. Die Naturwissenschaften, 19, S. 413—416.

Aus dem Phytopathologischen Laboratorium
des Instituts für Pflanzenschutz, Leningrad.
(Leiter: Prof. Dr. N. Naumov.)

Zur Frage der Widerstandsfähigkeit der Cruciferen gegen die Kohlhernie (*Plasmodiophora brassicae* Wor.).

Von

Emilia Rochlin.

Mit 7 Textabbildungen.

Beim Studium von Infektionskrankheiten sind dreierlei Faktoren zu berücksichtigen. Erstens, sämtliche Eigenschaften des die Infektion aufnehmenden Organismus; zweitens, sämtliche Eigenschaften des Parasiten und drittens, sämtliche äußeren Umstände.

In der vorliegenden Arbeit war für uns nur die erste Art der Faktoren von Interesse, d. h. diejenigen Eigenheiten der Cruciferen, welche ihre Widerstandsfähigkeit gegen *Plasmodiophora brassicae* bedingen. Diese Widerstandsfähigkeit kann sowohl von anatomischen, als auch von biochemischen Eigentümlichkeiten der Pflanze abhängen.

Daher ist der Zweck vorliegender Untersuchung die Klarlegung der anatomischen und biochemischen Eigentümlichkeiten der Cruciferen mit verschiedenem Grad ihrer Empfänglichkeit gegen *Plasmodiophora brassicae*. Bekanntlich sind nicht nur Kulturpflanzen (Kohl, Rübe, Rettich, Radieschen, gelbe Rübe u. a.) empfänglich gegen die Kohlhernie, sondern auch die Mehrzahl der wildwachsenden Cruciferen; dessen ungeachtet gibt es eine Reihe von Arten, ja von ganzen Gattungen, welche sich durch ihre Unempfindlichkeit auszeichnen, z. B. die Gattungen *Barbarea, Draba, Malcolmia, Matthiola* u. a.

Schon im Bereich einer und derselben Art gibt es starke Schwankungen im Grade der Empfänglichkeit (Naumov). Außer der Immunität ganzer Arten und Gattungen lassen sich aber auch unter den Sorten und Individuen Unterschiede feststellen.

Zur Kontrolle des Empfänglichkeitsgrades verschiedener Vertreter aus der Familie der Cruciferen gegen *Plasmodiophora brassicae* (in unseren Verhältnissen), säten wir eine Reihe von Pflanzen in stark durch Sporen der *Plasmodiophora brassicae* infizierten Boden. Dieser Erde wurde ein Gemenge zugesetzt, das aus in Wasser zerkleinerten, stark infizierten Wurzeln von Braunschweiger Kohl bestand. Die Resultate unserer in

den Sommern 1930 und 1931 vorgenommenen Versuche sind in nachstehender Tabelle angeführt (Tabelle A).

Die Pflanzen sind nach dem System von **Prantl** geordnet. Angeführt wird die Anzahl der Pflanzen im Versuch überhaupt und der Prozentsatz der infizierten.

Tabelle A.

Name der Pflanzen	Anzahl der Pflanzen	% der infizierten
Heliophilinae:		
Heliophila amplexicaule L.	112	46
Lepidinae:		
Biscutella auriculata L.	5	40
Cochleariinae:		
Iberis amara L.	45 11[1]	51 18
Iberis pinnata L.	11	82
Iberis umbellata L.	11	73
Thlaspi alpestre L.	23 61	0 3
Thlaspi oliveri Eng.	62	0
Cochlearia officinalis L.	43	0
Cochlearia Danica L.	8	75
Sisymbriinae:		
Sisymbrium irio L	73	64
Isatis glauca L.	9	0
Isatis tinctoria L.	6	17[2]
Vellinae:		
Succoria balearica Medis.	15	100
Carrichtera vella	47	100
Brassicinae:		
Eruca sativa	63	30
Sinapis alba	73	81
Sinapis (Brassica) arvensis L.	24	100
Brassica oleracea:		
Brassica Sorte Braunschweig	115	100
Brassica Sorte Kopenhagen	32	100
Brassica Sorte Amager	28	100
Brassica Napus var. oleifera — Raps	19	11
Brassica Napus S. esculenta — Gelbe Rübe (S. Krasnosselski)	40 73	0 0
Brassica Rapa — (S. Petrowski)	20	50
Brassica Rapa — Rübe (S. Mai)	51	35
Brassica nigra Koch	23 54	0 0
Cardamininae:		
Barbarea vulgaris foliis viridis	21 58	0 0
Barbarea vulgaris foliis variegatis	83 109	0 0
Barbarea bracteosa Guss.	77	0
Barbarea lyrata Aschus.	81	0
Barbarea plantaginea D. C.	82	65
Barbarea rupicola Moris	104	99

[1]) Die doppelten Zahlen bezeichnen die Ergebnisse von zwei Jahren: 1930 und 1931.

[2]) Nur eine Pflanze erwies sich als angesteckt; es zeigte sich eine leichte Schwellung.

Name der Pflanzen	Anzahl der Pflanzen	% der infizierten
Capsellinae:		
Aubrietia olympica Boiss.	12	0
Aubrietia deltoidea	20	0
Draba subamplexicaulis C. A. M.	25	44
Draba pyrenaica L.	30	63
Draba Dorneri Henff.	21	33
Draba scandinavica Lindbl.	62	26
Turritinae:		
Turritis glabra L.	14	79
Arabis alpina L.	33 73	27 18
Erysiminae:		
Erysimum Perowskianum F.	37	62
Alyssinae:		
Alyssum alpestre	15	47
Alyssum desertorum	14	57
Malcolmiinae:		
Malcolmia maritima R. Br.	58	9
Hesperidinae:		
Hesperis alpina Schur.	22	0
Hesperis fragrans Fisch.	41	0
Hesperis matronalis var. nana L.	39	0
Hesperis lutea Maxim.	17	100

Diese Tabelle zeigt, daß die systematische Ordnung der Pflanze ihren Empfänglichkeitsgrad nicht beeinflußt, was durch die Beobachtungen anderer Forscher bestätigt wird (Naumov, Cunningham u. a). Innerhalb jeder Gruppe finden sich Pflanzen mit verschiedener Widerstandsfähigkeit. So gibt es z. B. im Bereich der *Brassicinae* Pflanzen, welche in der Regel 100% Erkrankungsfälle geben (alle Sorten *Brassica oleracea*, *Brassica arvensis* u. a.). Zugleich gibt es Pflanzen; die sich durch vollkommene Widerstandsfähigkeit auszeichnen (*Brassica nigra*, gelbe Rübe S. Krasnosselski u. a.) und endlich findet man innerhalb derselben Gruppe der *Brassicinae* auch solche, die einen mittleren Empfänglichkeitsgrad zeigen (Rübe, Raps, *Eruca sativa* u. a.). Sowohl auf Grund eigener Beobachtungen, als auch nach Angaben anderer Forscher über das Verhalten verschiedener Cruciferen zur Kohlhernie, wurden hier Gattungen gewählt, die in bezug auf ihre Widerstandsfähigkeit als Typen gelten können, und erstens ihr anatomischer Bau, zweitens ihre chemische Zusammensetzung zur Feststellung der die Immunität bedingenden Faktoren untersucht. Wir verweilen zunächst bei der Frage, in welchem Grade die Empfänglichkeit für Kohlhernie durch den spezifischen Bau der Pflanze beeinflußt wird.

Die Infektion gelangt bekanntlich aus den Sporen des Bodens in die Pflanze, daher finden die Veränderungen zuerst im Wurzelteil statt. Der Wurzelteil der infizierten Pflanzen ist durch zahlreiche Wucherungen

stark verunstaltet, sowohl an der Hauptwurzel als auch an den Nebenwurzeln.

Wie unsere Versuche zeigen, tritt die Infektion schon sehr früh ein. Bringt man z. B. Samen von Braunschweiger oder Kopenhagener Kohl, oder *Brassica arvensis* und anderen Cruciferen in infizierten Boden, so zeigen sich schon am siebenten Tage in den jungen Wurzeln die plasmatischen Massen des Parasiten hauptsächlich an den Wurzelhaaren und in den Epidermiszellen.

Kunkel hat bei seinen Versuchen das Eindringen des Parasiten am neunten und zehnten Tage beobachtet.

Um diese Zeit (siebenten bis zehnten Tag) zeigt die Wurzel das typische Bild der Primärentwicklung.

In der Mitte liegt der Zentralzylinder, an der Peripherie die ihn mit einer Epidermis umgrenzende Rinde. Die innere Rindenschicht bildet die sogenannte Endodermis, welche unmittelbar am Zentralzylinder liegt. Dieser letztere besteht aus einer (selten zwei) Schicht zarter Zellen des Perizykels. In der Mitte desselben unterscheidet man zwei einander gegenüber liegende Gruppen von Primärgefäßen, in den Zwischenräumen primäre Bastteile.

Es wird angenommen, daß bestimmte Eigenschaften der äußeren Gewebe, wie z. B. die Bildung einer Korkschicht, die Dicke der Cuticula, der Wachsüberzug der Cuticula, wie auch ein stark entwickeltes Kollenchym oder mechanisches Gewebe zum Schutz gegen das Eindringen des Parasiten dienen. Die äußere Deckschicht der jungen Wurzel bildet eine dünnwandige Epidermis, an der die Cuticula fehlt, daher ist die Empfänglichkeit oder Unempfänglichkeit der Pflanzen gegen *Plasmodiophora* mit der oben erwähnten anatomischen Eigentümlichkeit nicht in Verbindung zu bringen. Über die anderen anatomischen Eigenheiten ist zu sagen, daß in diesem Stadium der Entwicklung die Wurzel weder Korkschicht noch Kollenchym besitzt, und daß von mechanischem Gewebe erst die primären Elemente der Leitgewebe, d. h. die Primärgefäße, vorhanden sind, welche in Form zweier kleiner Gruppen im Zentrum des Zentralzylinders liegen.

Daß die anatomischen Eigenheiten junger Pflanzen auf deren Empfänglichkeit oder Unempfänglichkeit gegen *Plasmodiophora* keinen Einfluß haben, zeigt am überzeugendsten Folgendes: Die Arbeiten von van Tieghem und Lohrer, sowie auch unsere Untersuchungen zeigen, daß (mit Ausnahme der Rübe) bei fast allen Cruciferen der primäre Wurzelbau der gleiche ist, d. h. er entspricht dem, was im Vorstehenden über den Braunschweiger Kohl gesagt worden ist.

Folglich haben sowohl gegen *Plasmodiophora* empfängliche, als auch unempfängliche Pflanzen den gleichen primären Wurzelbau.

Können die Eigenheiten des sekundären Wurzelbaues die Widerstandsfähigkeit der Pflanzen gegen *Plasmodiophora* beeinflussen?

Während, wie oben erwähnt, die Wurzeln junger Pflanzen einen gleichen anatomischen Bau zeigen, lassen sich bei ausgewachsenen Pflanzen wesentliche Unterschiede im Bau der Wurzel feststellen.

Schon 1887 hat Lohrer, in der Hauptsache vom Bau der sekundären Holzteile ausgehend, bei Cruciferen zwei Wurzeltypen nachgewiesen. Der erste Typ ist dadurch erkenntlich, daß das Xylem durch breite Markstrahlen radial gespalten ist, wodurch der Querschnitt einer solchen Wurzel strahlenförmig erscheint (siehe Abb. 1; Fig. 1, 2, 3). Die Gefäße liegen radial und konzentrisch. Zu diesem Typus rechnet Lohrer: *Bunias orientalis, Bunias erucago, Nasturtium silvestre, Raphanus sativus, Brassica napus* und *Brassica oleracea, Sisymbrium austriacum, Isatis tinctoria, Lepidium Draba* u. a.). Lohrers zweiter Typus zeichnet sich dadurch aus, daß ihm die Markstrahlen fehlen. Das Xylem ist kompakt, das strahlenförmige Aussehen fehlt (Abb. 1; Fig. 4, 6, 7, 8), der Strahlenzylinder dieses Wurzeltypus zeigt völlige (Abb. 1; Fig. 4) oder teilweise Verholzung (Abb. 1; Fig. 6, 7, 8). Im Falle teilweiser Verholzung bleibt der innere Teil des Zentralzylinders dünnwandig, unverholzt, mit in ihm verstreut liegenden Gefäßgruppen oder Einzelgefäßen. Der äußere Teil des Zentralzylinders tritt als kompakter Xylemring hervor (Abb. 1; Fig. 7, 8).

Zu dieser Gruppe zählt Lohrer *Cochlearia officinalis, Aubrietia deltoidea, Sisymbrium Alliaria, Capsella bursa pastoris, Teesdalia nudicaulis, Farsetia clypeata, Barbarea vulgaris, Alyssum petraeum, Lepidium perfoliatum, Arabis procurrens, Arabis alpina, Turritis glabra* u. a.

Die von uns untersuchten Pflanzen, sowohl die empfänglichen, als auch die widerstandsfähigen, weisen einen Wurzelbau auf, der für den ersten, wie auch für den zweiten Typus Lohrers charakteristisch ist.

Unsere Untersuchungen wurden an drei Monate alten Pflanzen gemacht. Alle von uns beobachteten Kohlsorten (bei welchen die Infektionsfälle in der Regel 100% ergaben) weisen den für Typus I charakteristischen Wurzelbau auf.

Der Querschnitt der Wurzel einer drei Monate alten Pflanze von Braunschweiger Kohl zeigt Folgendes (Abb. 1; Fig. 1): Im Mittelpunkt des Querschnitts sieht man zwischen den Zellen des Holzparenchyms liegende Primärgefäße. Weiterhin folgen in radialer Anordnung die dickwandigen, von breiten, aus dünnwandigen Parenchymzellen bestehenden, Markstrahlen durchzogenen Elemente der sekundären Holzteile. Daher haben die Holzteile an diesen Querschnitten die Form von Strahlen. Das Xylem wird von einem Kambiumring umschlossen: außerhalb des letzteren liegt das Phloem mit mächtigen Bündeln von Bastfasern. Endlich folgt das dünnwandige Parenchym der Primärrinde, welche in einer dünnen Korkschicht endet.

Zu demselben Typus gehört auch *Brassica nigra*, welche im Gegensatz zu *Brassica oleracea* außerordentlich widerstandsfähig gegen *Plasmodiophora* ist.

Ein Querschnitt durch die Wurzel von *Brassica nigra* (Abb. 1; Fig. 2), zeigt ebenfalls strahlenförmige Anordnung der Holzteile. Am Rande des Xylems sieht man weite Gefäße. Die Markstrahlen verholzen teilweise, was die Bildung eines dünnen Holzringes zur Folge hat.

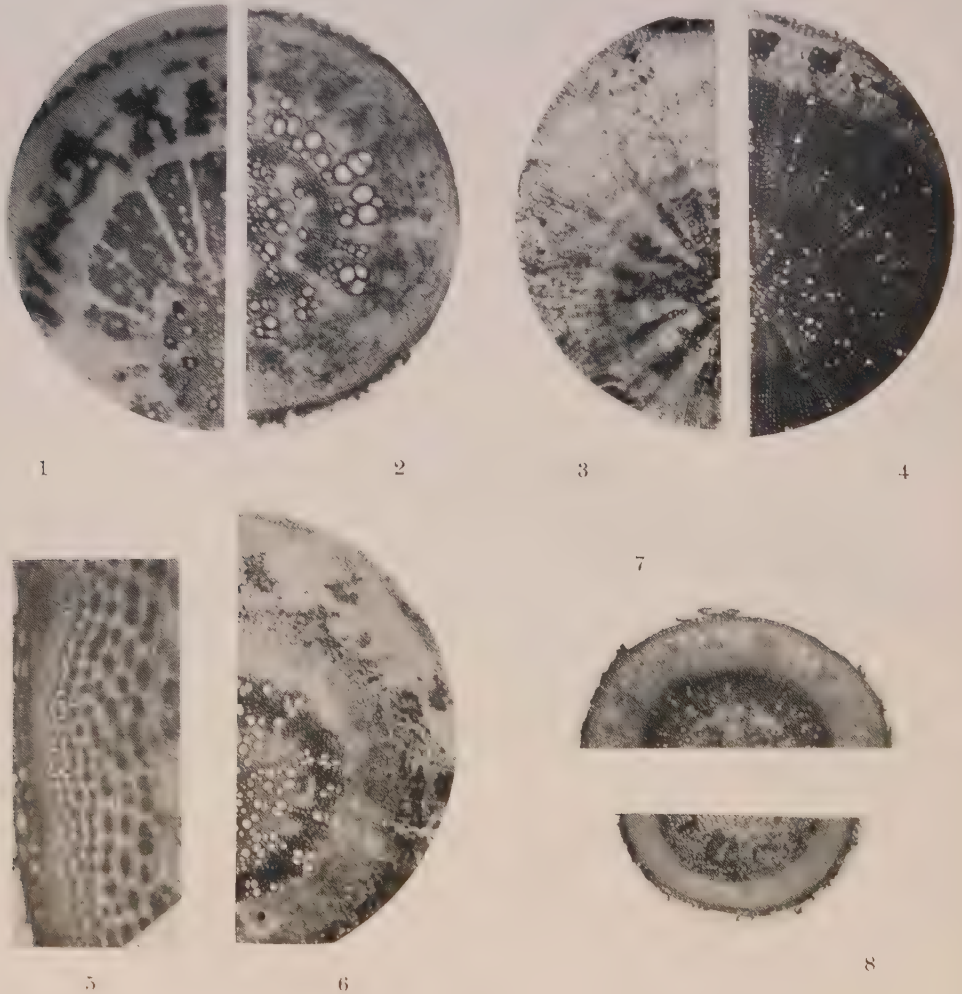


Abb. 1.

1 Querschnitt durch eine Wurzel von Braunschweiger Kohl. I Typus
2 „ „ „ „ „ *Brassica nigra.* I Typus
3 „ „ „ „ „ *Isatis glauca.* I Typus
4 „ „ „ „ „ *Brassica Sin. arvensis.* II Typus
5 Kleiner Teil eines Querschnittes aus dem Umriß der Wurzel von *Thlaspi alpestre.* Kollenchym.
6 Querschnitt durch eine Wurzel von *Barbarea vulgaris.* II Typus
7 „ „ „ „ „ *Alyssum alpestre.* II Typus
8 „ „ „ „ „ *Arabis alpina.* II Typus

Im übrigen erinnert der Bau der Wurzel an denjenigen von *Brassica oleracea* mit dem Unterschiede, daß hier die Bastfasern fehlen.

Ähnlichen Wurzelbau zeigen die Krasnosselsker gelbe Rübe, die Petrowski-Rübe und die Mairübe. Der Zentralzylinder zeigt ebenfalls radiale Anordnung der Gefäße. Markstrahlen wie Rinde enthalten Stärkekörner in großen Mengen.

Von den von mir beobachteten Pflanzen gehören zum 1. Typus ebenfalls *Isatis glauca* (Abb. 1, Fig. 3) und *Isatis tinctoria*, von denen die erste 0 % Infektionsfälle, die zweite 17 % aufwies. Bei diesen Pflanzen tritt der strahlige Charakter der Holzteile besonders stark hervor. Markstrahlen und die breite Rindenschicht sind voll von Stärkekörnern. Der äußere Teil ist die aus 3—5 Schichten bestehende Korkschicht.

Betrachtet man die oben erwähnten, zu Typus 1 gehörenden Pflanzen vom Standpunkt ihrer Empfänglichkeit gegen *Plasmodiophora*, so ergibt sich, daß zu ihnen sowohl Pflanzen mit 100 % Infektionsfällen, als auch vollkommene Widerstandsfähigkeit aufweisende Pflanzen gehören. So ergeben sich bei allen Sorten der *Brassica oleracea* in der Regel 100 % Infektionsfälle, während *Brassica nigra*, *Isatis glauca*, *Isatis tinctoria*, Krasnosselsker gelbe Rübe zu den völlig widerstandsfähigen Pflanzen, und Petrowski-Rübe sowie Mairübe zu den Pflanzen mit mittlerer Empfänglichkeit gehören.

Die Mehrzahl der von mir beobachteten Pflanzen gehören nach dem Wurzelbau zu Typus 2 (Abb. 1; Fig. 4, 6, 7, 8). Zu dieser Gruppe gehören alle von uns untersuchten Gattungen von *Barbarea*, *Alyssum alpestre*, *Alyssum desertorum*, *Erysimum Perowskianum*. *Arabis alpina*. *Thlaspi alpestre*, *Thlaspi oliveri*, *Iberis amara*, *Iberis pinnata*, *Iberis umbellata*, *Carrichtera vella*, *Sinapis alba*. *Eruca sativa*. *Malcolmia maritima*. *Sisymbrium irio*. *Biscutella auriculata*, *Heliophila amplexicaule*, alle untersuchten Gattungen von *Hesperis*, *Sinapis arvensis (Brassica arvensis)* und *Succovia balearica*.

Unter den Wurzeln dieses Typus unterscheidet man solche mit kompaktem Xylem (Abb. 1; Fig. 4) und solche, bei denen der Zentralzylinder nur teilweise Verholzung zeigt (Abb. 1; Fig. 6, 7, 8).

Zur ersten Kategorie gehören *Iberis amara*, *Carrichtera vella*, *Sinapis alba*, *Hesperis matronalis*, *Eruca sativa*. *Malcolmia maritima*. *Sisymbrium irio*. *Biscutella auriculata*, wie auch *Brassica arvensis* und *Succovia balearica*.

Bei diesen Pflanzen ist die Rinde schwach entwickelt, sie tritt in Form eines schmalen Streifens hervor und endet in einer dünnen Korkschicht.

Was die Kategorie der Pflanzen mit teilweise verholztem Zentralzylinder betrifft, so gehören zu ihnen alle Gattungen *Barbarea*. *Alyssum*. *Erysimum Petrowskianum*, *Arabis alpina*, *Thlaspi alpestre*.

Bei den letztgenannten beiden Pflanzen besteht der Zentralzylinder aus ungleichmäßig zwischen den nichtverholzten Holzteilen des Parenchyms verstreuten Gefäßgruppen (Abb. 1; Fig. 8). Bei den übrigen Pflanzen wird der Zentralzylinderrand durch einen kompakten Holzring dargestellt, in dessen Mitte das nicht verholzte, isoliert liegende, Gefäßgruppen enthaltende Holzparenchym sichtbar ist (Abb. 1; Fig. 6 und 7).

Bei diesen Pflanzen ist die Rinde gut entwickelt; am Außenrande liegt die mehr oder minder dicke Schicht des Kollenchyms (Abb. 1, Fig. 5), außerhalb derselben die aus 2—3 Lagen bestehende Korkschicht.

Betrachtet man alle zu Typus 2 gehörenden Pflanzen vom Standpunkt ihrer Unempfänglichkeit gegen *Plasmodiophora brassicae*, so ist der Grad der Empfänglichkeit ein verschiedener. So sind z. B. alle Gattungen *Barbarea*, mit Ausnahme von *Barbarea rupicola* und *Barbarea plantaginea* durchaus widerstandsfähig. *Barbarea rupicola*, von gleichem Wurzelbau wie *Barbarea lyrata*, gibt 99 % Infektionsfälle, während *Barbarea lyrata* 0 % hat.

Dieses Beispiel ist schon ein klarer Beweis dessen, daß Pflanzen mit anatomisch ähnlichem Wurzelbau gegen die Kohlhernie einen verschiedenen Grad von Empfänglichkeit zeigen.

Wenn die Infektion der Pflanzen in den Anfangsstadien der Entwicklung, wie schon gesagt wurde, unabhängig von anatomischen Eigenheiten vor sich geht, so können doch bei reiferen Pflanzen einige Eigenschaften der Periphergewebe (Kork, Kollenchym), sowie kompakter Bau der Holzteile in vielen Fällen das Eindringen und die Verbreitung des Parasiten in der Pflanze erschweren. Wir machten folgende Versuche: Ein bis zwei Monate alte, gesunde Pflanzen wurden in Kästen mit Erde gepflanzt. Das Infektionsmaterial wurde in der Weise in den Boden gebracht, daß um jede Pflanze herum die Erde mit einer konzentrierten Sporensuspension in Wasser begossen wurde. Die Sporen wurden aus vorjährigen infizierten Wurzeln erhalten. Nach einem Monat wurden die Pflanzen aus der Erde genommen und untersucht.

Die Anzahl der infizierten Pflanzen war bedeutend geringer als in den Fällen, wo Samen in infizierte Erde ausgesät wurden. So ergab sich bei *Iberis pinnata*, welche bei Aussaat in infizierte Erde 82 % Erkrankungen zeigte, bei Infektion reiferer Pflanzen (zwei Monate alt) nur 40 % erkrankter Pflanzen. Ferner gab die gewöhnlich 100 % Erkrankungsfälle aufweisende *Succoria balearica* nur 60 % Infektionen. *Alyssum alpestre* mit früher 47 % Erkrankungen, gab beim Infizieren reifer Pflanzen überhaupt keine Erkrankungen. Diese Verminderung des Prozentsatzes der Erkrankungen beim Infizieren reifer Pflanzen läßt sich offenbar durch die Entwicklung der Korkschicht und des Kollenchyms erklären (natürlich sind auch etwaige Unterschiede der Bedingungen bei Durchführung der Versuche in Rechnung zu ziehen).

Ein bis zwei Monate alte Pflanzen zeigen immer eine Korkschicht, außerdem entwickelt sich bei *Alyssum alpestre* ein Kollenchymring, welcher in gewissem Sinne ein Infektionshindernis bildet.

Es muß ebenfalls bemerkt werden, daß bei Erkrankungen reifer Pflanzen Geschwulstbildungen am häufigsten in jungen Nebenwurzeln beobachtet werden, d. h. in denjenigen Teilen der Pflanze, in denen die obenerwähnten Deckgewebe sich noch nicht entwickelt haben.

Wie gestaltet sich das Krankheitsbild in Verbindung mit dem sekundären Wurzelbau?

Bei mikroskopischer Untersuchung der erkrankten Hauptwurzel einer in späterem Lebensalter (zwei Monate) infizierten Pflanze, läßt sich folgendes Bild beobachten: Im Braunschweiger Kohl sowohl wie in allen Pflanzen mit strahlenförmiger Anordnung der Markstrahlen nach Typus 1, sind die plasmatischen Massen des Parasiten im Parenchym der Rinde, im Bast, im Kambium und endlich in den Markstrahlen verstreut. Infolge einer unverhältnismäßigen Wachstumshyperplasie der erkrankten Markstrahlen spalten sich die Holzteile in einzelne Inselchen. Infolge dieser Spaltung der Nährgewebe in isolierte Bezirke wird die Wasserzufuhr unterbunden und das Welken und Absterben der Pflanze beschleunigt. Bei Pflanzen mit Wurzeln nach Typus 1 erstrecken sich also die Krankheitserscheinungen über die ganze Wurzel bis zu den tiefsten, zentralsten Teilen. Was nun die Pflanzen mit Wurzelbau nach Typus 2 betrifft, d. h. mit kompaktem Xylem ohne Markstrahlen, so haben die Krankheitserscheinungen hier nur lokalen Charakter und zeigen sich hauptsächlich in der Rinde und im Kambium. Die feste kompakte Masse der Holzteile bildet ein unüberwindliches Hindernis für den Parasiten.

Aus allem bisher Gesagten geht hervor, daß bei Infektion einer reifen Pflanze der Wurzeltypus, besonders aber der Charakter des Xylems auf das Eindringen des Parasiten einen gewissen Einfluß haben. Kompaktes Xylem erschwert die Ausbreitung der Infektion; die Erkrankung ist in solchen Fällen nur eine lokale (Krankheitserscheinungen finden sich am häufigsten in der Rinde und im Kambium).

Die Widerstandsfähigkeit junger Pflanzen gegen die Kohlhernie steht also nicht im Zusammenhang mit ihrem anatomischem Bau.

Was nun reife Pflanzen betrifft (mit ausgebildeten sekundären Elementen), so hängt ihre Erkrankung bis zu einem gewissen Grade von den anatomischen Eigenschaften der betreffenden Pflanzen ab.

Im weiteren wird ausgeführt werden, was (nach unserem Dafürhalten) auf die Widerstandsfähigkeit der Cruciferen von Einfluß sein kann.

Bleiben wir vorläufig bei der Frage, wie der Parasit in die Pflanze gelangt und wie er sich in den Geweben verbreitet.

Unsere Studien über das Eindringen des Parasiten in die Gewebe der Pflanze haben wir an lebendem Material gemacht, hauptsächlich an Braunschweiger Kohl und *Brassica arvensis.*

Als sehr bequemes Objekt für die Beobachtung der ersten Krankheitsstadien der Pflanze erwies sich *Brassica arvensis.*

In stark mit Sporen der *Plasmodiophora* durchsetzte Erde wurden Samen von Braunschweiger Kohl und *Brassica arvensis* gelegt. Die auf-

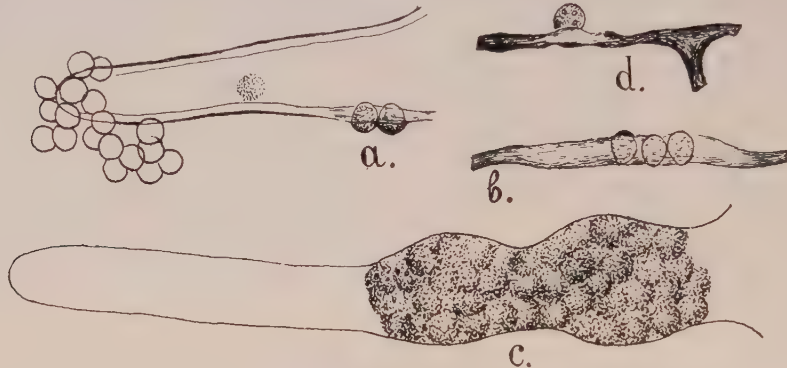


Abb. 2.
Eindringen des Parasiten durch gequollene und aufgelockerte Zellwand des Wurzelhaares von *Brassica (Sinapis) arvensis*, 8—10 Tage alt, im Innern mit protoplasmatischem Körper von *Plasmodiophora brassicae.* Vergrößerung zirka 1000.

gegangenen Pflanzen wurden unter dem Mikroskop untersucht. Die Untersuchung wurde in vivo vorgenommen. Die Würzelchen wurden abgeschnitten, im Wassertropfen auf den Objektträger gebracht und mit dem Deckglase leicht angedrückt. Die jungen Gewebe, besonders in äußeren Schichten, erwiesen sich als genügend durchsichtig und für eine mikroskopische Untersuchung geeignet.

Außer der Wurzeluntersuchung in toto wurden auch Schnitte untersucht.

Diese Untersuchungen zeigen, daß der Parasit durch die Wurzelhaare und Epidermiszellen in das Innere der Pflanze eindringt.

Abb. 2a zeigt das Wurzelhaar einer sieben Tage alten Pflanze von *Brassica arvensis*, dessen Spitze mit Sporen von *Plasmodiophora brassicae* bedeckt ist. Die Sporen sind fest an die Zellwand angedrückt, welche an dieser Stelle anschwillt und eine unebene Fläche bildet (Abb. 2a und b). Diese deformierten Stellen der Zellwand werden durch Chlor-Zink-Jod nicht gefärbt, während die normale Zellwand die für Zellulose charakteristische blau-violette Färbung annimmt. Das weist darauf hin, daß die Zellwand an diesen Stellen chemischen Veränderungen, richtiger der Ver-

schleimung ausgesetzt ist. Im Moment des Durchdringens der Zellwand hat der Parasit das Aussehen kugeliger, lockerer, plasmatischer Gebilde, ihrer Gestalt nach wenig größer als Sporen. Fetttropfen sind nicht zu sehen.

Größere Anhäufungen solch plasmatischer Kügelchen können das Wurzelhaar verdicken; die Folge davon sind Wucherungen, die mit plasmatischen Massen des Parasiten ausgefüllt sind (Abb. 2c).

Das gleiche Bild vom Eindringen des Parasiten läßt sich in den Zellen der Wurzelhaut beobachten. Die unebene Linie der Zellwand mit ihren ungleichmäßigen Verdickungen weist auf das Eindringen des Parasiten hin (Abb. 2d und 3). Bei weiterer Beobachtung (nach drei bis fünf Tagen) läßt sich feststellen, daß besagte kugelförmige Körper, wenn im Inneren der Zelle befindlich, sich allmählich auflockern, an Umfang zu-

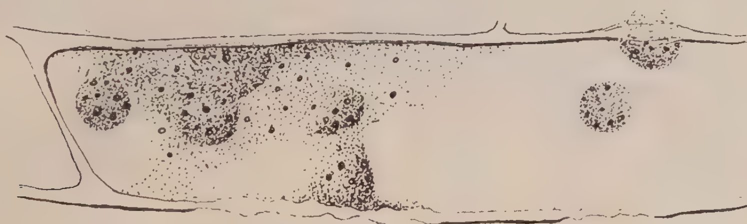


Abb. 3.

Epidermiszelle einer Wurzel von *Brassica (Sinapis) arvensis*, 10 Tage alt. Der irreguläre Umriß der Zellwand weist auf das Eindringen des Parasiten. Im Innern sieht man protoplasmatische Körper von *Plasmodiophora brassicae*. Vergrößerung zirka 1000.

nehmen und grobkörnig werden; zugleich erscheinen feine Fetttröpfchen (Abb. 3 und 4). Die körnige Masse und die Fetttröpfchen befinden sich in schneller, schwingender Bewegung. Die Fähigkeit der Amöboiden, Zellhäute zu durchdringen, wurde von Woronin und Kunkel, von Chupp und Naumov festgestellt, während Nawaschin wie auch Faworski meinen, daß ein aktives Durchdringen des Parasiten durch Zellhäute unmöglich sei.

Auf Grund unserer Beobachtungen sind wir zu dem Schluß gekommen, daß das primäre Eindringen des Parasiten in die Pflanze auf aktivem Wege geschieht. Was die weitere Verbreitung des *Plasmodiophora brassicae* in den Geweben der Pflanze betrifft, so läßt sich außer aktiver intramatikaler, mit einer chemischen Deformation der Zellwände verbundenen, oft bis zum Zerfall der letzteren führenden Migration des Parasiten, ebenfalls, als Resultat der Teilung, ein passiver Übergang der Amöboiden von Zelle zu Zelle beobachten. In dieser Beziehung werden unsere Beobachtungen durch diejenigen von Nawaschin und Faworski unterstützt. Untersuchungen über die Verbreitung in den Geweben der Pflanze wurden von uns sowohl an lebendem, als auch an fixiertem und gefärbtem Material vor-

genommen. Es wurde von uns Fixation mit 96 $^0/_0$igem Alkohol angewandt. ferner die Mischungen von Zenker (mit Formalin) und Champy; als Färbemittel Eisen-Haematoxylin von Haidenhain und der dreifache Farbstoff von Flemming Safranin-Gentianaviolett-Orange.

Was die aktive Migration des Parasiten betrifft, so konnten wir folgende, besonders in späteren Stadien, wo die Amöboiden Plasmodien bilden, deutlich hervortretende Bilder beobachten.

Das Plasmodium streckt eine hyaloplasmatische Geißel hervor, gleich darauf kommt auch die körnige Masse in Bewegung. Diese Masse sieht man in ungefärbten Präparaten nur undeutlich. In fixierten und gefärbten Präparaten dagegen erscheint sie als homogene plasmatische Masse (Abb. 5a). Oft sieht man, daß die Zellwände vom Parasiten beklebt sind, während die Mitte der Zelle in der Art einer Kugel frei bleibt (Abb. 5b). Durch die lytische Einwirkung des Parasiten werden die Zellwände deformiert, aufgelockert (Abb. 5 und 6), und die ganze Masse des Parasiten in die Nachbarzellen hineingezogen (Abb. 5). Auf diese Weise verbreitet sich der Parasit in den Parenchym-Geweben der Wurzel auf völlig aktive Weise.

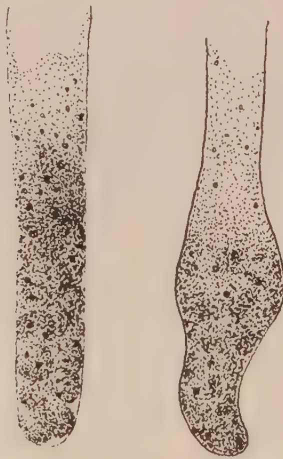


Abb. 4.
Infizierte Wurzelhaare von *Brassica arvensis*.
Vergrößerung zirka 1000.

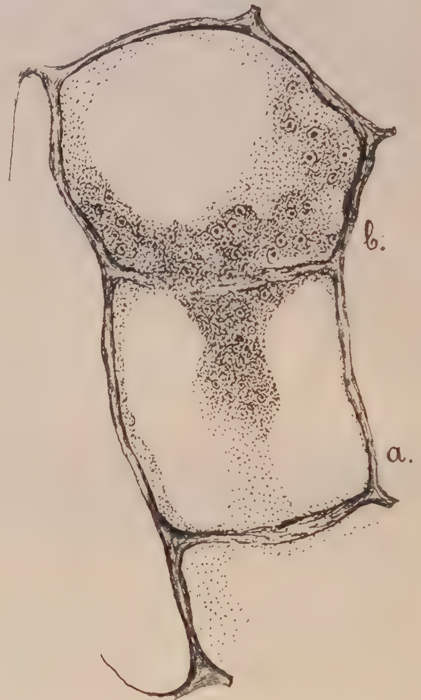


Abb. 5.
Aktive Migration des Parasiten im Rindengewebe einer infizierten Wurzel von Braunschweiger Kohl. Die protoplasmatischen Körper von *Plasmodiophora brassicae* durchdringen die aufgelockerten Zellwände. Vergrößerung zirka 1200.

Beim Betrachten fixierter und gefärbter Präparate ist es auffallend,

daß der Parasit oft den Zellkern der Pflanze umlagert. Solche Kerne können degenerieren oder zerfallen.

Oft aber teilen sich die Zellkerne in zwei Tochterkerne und zwischen ihnen entstehen neue Zellwände, welche die Zellen in Tochterzellen von gleicher oder ungleicher Größe teilen. Dabei spaltet sich mit dem Kern auch die Masse des Parasiten und gelangt so in die Tochterzellen (Abb. 7).

Solche Deformationen lassen sich hauptsächlich im Parenchym der Rinde und der Markstrahlen beobachten. Letztgenannte Beobachtungen beweisen auch die Möglichkeit einer passiven Verbreitung des Parasiten in den Geweben infolge lebhafter, durch einen gewissen Reiz des Parasiten hervorgerufener Teilung der Zellen.



Abb. 6.
Abnorm große Zellen aus der Wurzelrinde von Braunschweiger Kohl. Im Innern sieht man Sporenanhäufungen von *Plasmodiophora brassicae*. Quellung und Auflockerung der Zellwände. Vergrößerung zirka 1000.

Infolge verstärkter Zellvermehrung (Hyperplasie) und Volumenzunahme (Hypertrophie) vieler Zellen der Rinde, des Cambiums und der Markstrahlen entstehen an den Wurzeln Schwellungen und Wucherungen.

Nachdem wir nun die Wurzelbeschaffenheit der Cruciferen in anatomischer Hinsicht, sowie deren Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit, endlich auch Mittel und Wege zur Verbreitung des Parasiten betrachtet haben, gehen wir nun auf die biochemische Beschaffenheit der Cruciferen ein, da diese ebenfalls die Widerstandsfähigkeit gegen die Kohlhernie beeinflußt.

Bekanntlich haben die verschiedenen Gattungen der Pflanzen nicht nur eine ganze Reihe morphologischer, sondern auch biochemischer Eigenschaften, welche bis zu einem gewissen Grade die Pflanze schützen. So kann der chemische Bestand der Zelle als schützender Faktor gelten. Obwohl dieser Schutz gewiß nur ein beschränkter ist, so ist doch die Zahl der Feinde aus der Tier- und Pflanzenwelt für jede Pflanzengattung dank dem Vorhandensein gewisser biochemischer Bedingungen immerhin eine beschränkte. Eine sehr wichtige Rolle im Sinne solch eines Schutzes spielen gewisse, in den Geweben sich ansammelnde Stoffe. Als Schutz-

stoffe dienen in der Pflanzenwelt Alkaloide, Glukoside (Saponine, Nitroglukoside, Glukoside von Senfölen), Toxalbumine, organische Säuren, die ätzenden Stoffe des Milchsaftes verschiedener Pflanzen u. a.

Diese Stoffe können nicht nur Tiere und höhere Pflanzen abwehren, sondern auch Mikroorganismen, welche Pflanzen mit gewissem biochemischem Charakter nicht befallen.

In Hinsicht auf *Plasmodiophora brassicae* dienen in der Familie der Cruciferen als Schutzfaktor einige Senfölglukoside, wie weitere Ausführungen erweisen werden. Samen und vegetative Organe vieler Cruciferen enthalten besondere, Stickstoff und Schwefel enthaltende Glukosidstoffe.

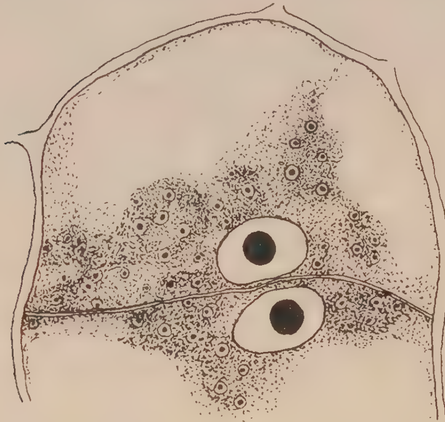


Abb. 7.
Passive Verbreitung des Parasiten durch abnorme Zellteilung und Querwandbildung. Dabei spaltet sich auch die Masse des Parasiten und gelangt so in die Tochterzellen. Vergrößerung zirka 1200.

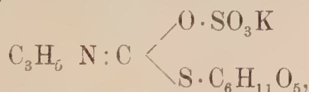
Bei der Hydrolyse geben sie Schwefelverbindungen, oft flüchtige, die sich durch einen starken, scharfen Geruch auszeichnen. Das sind die, in der Medizin acria-scharf genannten, Reizungen der Haut und der Schleimhäute hervorrufenden Stoffe. Diese Stoffe tragen seit langem die Bezeichnung Senföle. Zu ihnen gehören die Allyl-Senföle, die Knoblauchöle u. a. Die Grundstoffe aus denen die Senföle gewonnen werden, wurden Glukoside der Senföle oder Glukosinapide genannt.

In der Familie der Cruciferen vorkommende Glukoside sind Sinigrin, Sinalbin, Glukotropäolin, Glukonasturtiin, Glukocochlearin, Glukocheirolin u. a. Die biologische Bedeutung dieser Glukoside wird nach Errera u. a. auf ihre Schutzrolle zurückgeführt. Die Spaltung der Glukoside kann im Wasser bei gewöhnlicher oder schwach erhöhter Temperatur unter Einfluß der Enzyme vor sich gehen. Man nimmt an, daß jedes Enzym nur ein bestimmtes Glukosid spalten kann. Nach dem Ausspruch von F. Fischer müssen, damit die Spaltung des Glukosids vor sich gehen kann, Enzym und Glukosid so zu einander passen wie Schlüssel und Schloß.

Im pflanzlichen Organismus ist gewöhnlich neben dem Glukosid das ihm entsprechende Enzym vorhanden. So finden wir z. B. in der bitteren Mandel neben dem Amygdalin auch das dasselbe spaltende Enzym Emulsin; im schwarzen Senf neben dem Sinigrin das Myrosin. Das letztere findet sich in allen denjenigen Pflanzen, welche Glukoside der Senföle enthalten. In der Familie der Cruciferen ist in der Mehrzahl der hierher gehörigen

Pflanzen Myrosin zu finden. Dieses Ferment befindet sich in besonderen Zellen. Heinricher beschreibt diese letzteren als Eiweißschläuche oder Idioblasten auf Grund starker Reaktion auf Millonsches Reagens (rote Färbung). Guignard hat als erster darauf hingewiesen, daß diese Zellen das Ferment Myrosin enthalten. Nach seiner Behauptung befinden sich in allen Geweben Myrosin-Zellen. Guignard empfiehlt außer dem Millonschen Reagens auch die Jodprobe (gelbe Färbung) und die Orceinprobe mit Salzsäure (violette Färbung). Alle diese Reaktionen, besonders die Millonsche, erhält man, wie unsere Untersuchungen gezeigt haben, am besten an lebenden Objekten. Wenn das Ferment Myrosin bei der Mehrzahl der Cruciferen vorkommt, so findet sich das Glukosid lange nicht so oft. Nach Guignard sind die Glukoside der Senföle diffus in den Parenchymgeweben aller Organe der Pflanzen verbreitet, besonders in der Rinde der Wurzel und des Stengels. Die infolge von Spaltung des Glukosids entstehenden Senföle lassen sich mit Hilfe einer schwachen Alkohollösung von Alkanna gewinnen. In den Zellen der Rinde und der Holzteile des Parenchyms treten dann rote Tröpfchen von Senföl hervor, auf Grund dessen nach Guignard das Vorhandensein von Sinigrin festgestellt werden kann. Bei *Brassica nigra* haben wir diese Zellen hauptsächlich in der Rinde gefunden, die Zellen traten deutlich hervor, dank großer Öltropfen, welche in ungefärbten Präparaten stark lichtbrechend wirken.

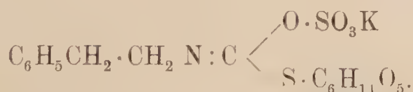
Wie schon oben bemerkt wurde, sind in der Familie der Cruciferen mehrere Senfölglukoside gefunden worden, welche bei Spaltung (durch Myrosin) gleiche, nur durch den Bau ihrer aromatischen Moleküle sich unterscheidende Zerfallsprodukte ergeben. Sinigrin (Myronsaures Kali) kommt bei vielen Cruciferen vor, besonders im schwarzen Senf *(Brassica nigra)*, in den Wurzeln des Rettichs *(Armoracia rusticana)*, in geringen Mengen in *Sinapis juncea*, *Sinapis glauca*, *Brassica rapa*, *Brassica napus* u. a. Es fehlt gänzlich im weißen Senf *(Sinapis alba)*. Nach Gadamer ist die Bauformel von Sinigrin:



$$C_3H_5\ N:C \begin{cases} O \cdot SO_3K \\ S \cdot C_6H_{11}O_5, \end{cases}$$

Bei Spaltung gibt Sinigrin ein flüchtiges, stark riechendes Senföl.

Glukonasturtiin erhält man aus *Barbarea praecox* und *Nasturtium officinale*



$$C_6H_5CH_2 \cdot CH_2\ N:C \begin{cases} O \cdot SO_3K \\ S \cdot C_6H_{11}O_5. \end{cases}$$

Nach Gadamer bildet dieses Glukosid ebenfalls ein flüchtiges, stark riechendes Senföl.

Identisch mit dem Glukonasturtiin ist nach Gadamer Glukotropäolin, aus *Lepidium sativum* erhalten.

Tabelle B.

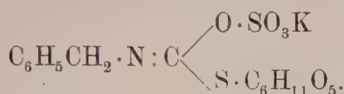
Name der Pflanze	% der Infizierten	Senfölglukoside	Senföle	Wurzelbautypus
Brassicinae:				
Brassica oleracea (Braunschw. Kohl)	100% (N)[1], 100% (R)	Nicht gefunden	Nicht gefunden	I
Brassica oleracea (Kopenhagener Kohl)	73% (N), 100% (R)	Nicht gefunden	Nicht gefunden	I
Brassica oleracea (Sorte Amager)	100% (R)	Nicht gefunden	Nicht gefunden	I
Brassica Napus var. oleifera (Raps)	83,7% (Cun.), 11% (R)	Sinigrin in kleinen Mengen	Allylsenföl (flüchtig mit scharfem Geruch)	—
Brassica Napus S. esculenta (gelbe Rübe S. Krasnosselski)	0% (Ssach.), 0% (R)	Sinigrin, nach neueren Angaben Glukonapin	Crotonylsenföl (flüchtig mit scharfem Geruch)	I
Brassicae Rapa (Petrowski-Rübe)	9,3% (Cun.), 50% (R)	Sinigrin in kleinen Mengen	Allylsenföl	I
Brassica Rapa (Mai-Rübe)	35% (R)	Sinigrin in kleinen Mengen	Allylsenföl	I
Brassica Rapa Rapifera (Weiße Rübe)	–	Glukonasturtiin	Flüchtiges Senföl mit starkem Geruch	I
Brassica campestris	16,6% (N)	—	Schwach riechendes Senföl	—
Brassica cernua	33% (N), 100% (Katt.)	—	Schwach riechendes Senföl	—
Brassica chinensis	100% (N), 100% (Katt.)	Nicht gefunden	Nicht gefunden	—
Brassica juncea (Sinapis juncea)	96% (N)	Sinigrin in kleinen Mengen	Flüchtige Senföle in kleinen Mengen (0,48%)	—
Brassicae nigra	0% (N), 38,7% (Cun.), + (Hast.), 0% (R)	Sinigrin in bedeutenden Mengen	Allylsenföl in bedeutenden Mengen	I
Sinapis alba	100% (N), +++ (Halst.), 81% (R)	Sinalbin	Para-oxy-tolylsenföl (nicht flüchtig	II
Sinapis arvensis (Brassicae arv.)	+ (N), 100% (Cun.), 100% (R)	Nicht gefunden	Nicht gefunden	II
Sinapis chinensis	50% (N)	—	Flüchtiges Senföl in kleinen Mengen (0,9%)	—
Eruca sativa	90% (N), 50% (N), 30% (R)	—	Angelyksenföl (nicht flüchtig)	II
Raphanus sativus var. B. niger (Rettich)	0% (N), 0% (Ssach.)	Glukotropäolin	Benzylsenföl (flüchtig mit scharfem Geruch)	I
Raphanus sativus radicula (Radieschen)	53,4% (Cun.), 10% (Ssach.), 9% (Ssach.), — (versch- Sorten)	Glukotropäolin	Benzylsenföl (flüchtig mit scharfem Geruch)	I
Raphanus Raphanistrum	[illegible] (N)	Sinalbinähnliches Glukosid		

Cochleariinae:				
Iberis amara	0% (N), 51% (R), 18% (R)		Nach früheren Angaben enthält Allysenföl (mit starkem Geruch)	II
Iberis pinnata	0% (N), 82% (R)	—	—	II
Iberis umbellata	0% (N), + (Halst.), 73% (R)	—	Senföl mit schwachem Geruch (+)	II
Thlaspi alpestre	20% (N), 0% (R)	—	Flüchtige Senf- und Knoblauchöle	II
Thlaspi oliveri	0% (R)	—	Knoblauchöl mit außerordentlich starkem Geruch (+++)	II
Thlaspi arvense	99% (N), 66% (N), 86% (Cun.), +++ (Halst.), + (Ravn)	Nach alten Angaben besitzt kein Sinigrin, nach neueren, kleine Mengen	Senf- und Knoblauchöle in unbedeutenden Mengen (zirka 0.8%)	—
Cochlearia officinalis	0% (N), 0% (R)	Glukocochlearin	Secundär-Butylsenföl (flüchtig mit starkem Geruch)	II
Cochlearia Armoracia (Armoracia rusticana)	0% (R)	Sinigrin	Allylsenföl primär sekundär	III I
Sisymbriinae:				
Sisymbrium irio	64% (R)	—	Senföl mit schwachem Geruch (+)	II
Isatis glauca	0% (R)	Glukotropäolin	Benzylsenföl (flüchtig mit sehr starkem Geruch) (+++)	I
Isatis tinctoria	17% (R), (nur eine Pflanze von sechs erwies sich als leicht angesteckt)	Glukotropäolin	Benzylsenföl (flüchtig mit sehr starkem Geruch) (+++)	I
Isatis undulata	0% (N)	Glukotropäolin	Benzylsenföl (flüchtig mit sehr starkem Geruch) (+++)	—
Lepidiinae:				
Lepidium sativum	0% (N), 0% (N), 0% (Katt.) 0% (Cun.)	Glukotropäolin	Benzylsenföl	—
Biscutella auriculata	0% (N), 0% (N), 25% (Katt.) 40% (R)	—	Senföl mit schwachem Geruch (+)	II
Heliophilinae:				
Heliophila amplexicaule	+ (N), 0% (N), 46% (R)	—	Senföl mit starkem Geruch (++)	II
Cardamininae:				
Barbarea vulgaris fol. viridis	0% (N), 0% (N), 1,6% (N), 0% (R), 0% (R)	Glukonasturtiin	Flüchtiges Senföl	II
Barbarea vulgaris fol. variegatis	0% (R), 0% (R)	Glukonasturtiin	Flüchtiges Senfol	II
Barbarea praecox	+ (N), 0% (N)	Glukonasturtiin	Flüchtiges Senföl	—
Barbarea bracteosa	0% (R)	—	Senföl mit starkem Geruch (++)	II

[1]) Die in Klammern stehenden Buchstaben sind Autorennamen: (N) = Naumov, (R) = Rochlin, (Cun.) = Cunningham, (Ssach.) = Ssacharoff, (Katt.) = Katterfeld, (Halst.) = Halsted, (Ravn) = Ravn.

Fortsetzung Tabelle B.

Name der Pflanze	% der Infizierten	Senfölglukoside	Senföle	Wurzelbautypus
Barbarea plantaginea	65 % (R)	—	Senföl mit schwachem Geruch (+)	II
Barbarea rupicola	99 % (R)	—	—	II
Barbarea lyrata	0 % (R)	—	—	II
Capsellinae:				
Capsella bursa pastoris	+ (N), + (N), + (N), 57,3 % (Cun.), ++ (Halst.), 0 % (Katt.)	—	Flüchtige Senföle — unbedeutend (besitzt Alkaloide: Bursin und Saponin)	II
Camelina sativa	+ (Halst.), 0 % (N)	Nicht gefunden	Nicht gefunden	—
Aubrietia olympica	0 % (R)	—	Senföl mit starkem Geruch (++)	—
Aubrietia deltoidea	0 % (R)	—	Senföl mit starkem Geruch (++)	II
Draba subamplexicaulis C. A. M.	44 % (R)	—	Senföl mit schwachem Geruch (+)	—
Turritinae:				
Turritis glabra	0 % (N), 79 % (R)	Gefunden ein Glukosidsenföl	—	II
Arabis alpina	50 % (N), 52,4 % (Cun.) 27 % (R)	—	Senföl mit schwachem Geruch (+)	II
Erysiminae:				
Erysimum Perowskianum	0 % (N), 62 % (R)	Erysolin	Senföl	II
Malcolmiinae:				
Malcolmia maritima	9 % (R)	—	Senföl mit starkem Geruch (++)	II
Hesperidinae:				
Hesperis lutea	100 % (R)	—	Kein Geruch (—)	—
Hesperis alpina	0 % (R)	—	Senföl mit starkem Geruch (++)	—
Hesperis fragrans	0 % (R)	—	Senföl mit starkem Geruch (++)	—
Hesperis matronalis var. nana	0 % (N), 0 % (R)	—	Senföl mit starkem Geruch (++)	II
Hesperis matronalis	50 % (N), 75 % (N), 68,9 % (Cun.), + (Halst.)	Nicht gefunden	Nicht gefunden	II



$$C_6H_5CH_2 \cdot N : C \begin{matrix} \diagup O \cdot SO_3K \\ \diagdown S \cdot C_6H_{11}O_5. \end{matrix}$$

Sinalbin, das im weißen Senf vorkommt *(Sinapis alba)* hat einen anderen Bau:



$$C_6H_4OH \cdot CH_2 \cdot N : C \begin{matrix} \diagup O \cdot SO_3C_{16}H_{24}NO_5 \\ \diagdown S \cdot C_6H_{11}O_5. \end{matrix}$$

Mikrochemisch läßt sich Sinalbin durch Millons Reagens nachweisen. Obgleich dieses Reagens auch die Myrosinzellen rot färbt, erhalten doch die Sinalbin enthaltenden Zellen bald einen violetten Ton. Diese Reaktion hat auch praktische Bedeutung, da sie leicht und schnell im Senfpulver vermischte *Sinapis alba* von *Brassica nigra* unterscheiden läßt, da Sinigrin (aus *Brassica nigra*) durch Millons Reaktion nicht gefärbt wird.

Dieses Glukosid unterscheidet sich von allen anderen und gibt bei Spaltung kein flüchtiges Senföl (Casserbaum). Das Fehlen des flüchtigen Senföles im weißen Senf ist nach unserer Meinung maßgeblich für die Empfänglichkeit dieser Pflanze gegen Kohlhernie.

Nehmen wir andere, ebenfalls wenig oder gar keine flüchtigen Senföle enthaltende Pflanzen, wie z. B. *Sinapis arvensis*, *Eruca sativa* u. a. (vgl. Tabelle B), so sind auch diese gegen die Kohlhernie wenig widerstandsfähig.

Die Samen von *Cheiranthus Cheiri* enthalten ein eigentümliches Senfölglukosid, das man Glukocheirolin genannt hat. Dieses Glukosid ist dem Sinigrin analog; sein Zerfallsprodukt, Cheirolin, steht dem aus schwarzem Senf gewonnenen Allylsenföl sehr nahe.

Alle obenerwähnten Senfölglukoside kommen in verschiedenen Mengen in vielen Cruciferen vor (vgl. Tabelle B). In physiologischer Hinsicht stehen den Senfölen die Knoblauchöle sehr nah; nicht selten finden sie sich zugleich. Schon 1844 hat Wertheim gefunden, daß ungeachtet dessen, daß junge Pflanzen von *Alliaria officinalis* in allen ihren Teilen nur Senföl enthalten, später stärker und stärker nach Knoblauch riechen.

Bald darauf hat 1846 auch Pleß darauf hingewiesen, daß die *Alliaria*, wie auch einige Gattungen *Thlaspi* neben Senföl auch Knoblauchöl enthalten.

Die Knoblauchöle dienen den Pflanzen ebenso zum Schutze wie die flüchtigen Senföle.

Die Versuche von Kossowitz weisen auf Eigenschaften der infolge des Zerfalls von Sinigrin entstehenden Senföle hin. Nach den Angaben dieses Autors kann flüchtiges Senföl in einer Konzentration von 1 : 10000 Wuchs und Entwicklung der Bakterien völlig sistieren. Selbst eine Konzentration von 1 : 100000 wirkt hemmend auf diese Organismen. Daraus folgt, daß das infolge des Zerfalls von Sinigrin entstehende Senföl ein starkes Gift für Bakterien ist. Wie aus Tabelle B ersichtlich, besitzen nicht

alle Senfölglukoside Schutzeigenschaften. So geben Sinigrin, Glukocheirolin, Glukonasturtiin, Glukocochlearin, die der Struktur nach wie auch nach den analogen Zerfallsprodukten einander außerordentlich nahe stehen, den Pflanzen Widerstandsfähigkeit gegen *Plasmodiophora brassicae*, indem sie flüchtige Senföle mit scharfem Geruch bilden. Solche Glukoside, wie z. B. Sinalbin, die infolge Zerfalls zwar auch Senföle, aber keine flüchtigen und scharfriechenden geben, haben keine Schutzeigenschaften.

Bei uns vorgenommene Analysen beweisen, wenn auch in elementarer Form, so doch zweifellos, daß, je stärker beim Spalten der Glukoside der Geruch sich entwickelt, desto widerstandsfähiger die Pflanze gegen Kohlfäule ist. Es wurden folgende Versuche vorgenommen: Die zu prüfenden, aus der Erde genommenen Pflanzen wurden sorgfältig in Wasser gewaschen und mit den Blättern durch eine Fleischhackmaschine getrieben. Die auf diese Weise erhaltene breiige Masse wurde mit Wasser begossen und ein Extrakt von weißem Senf hinzugegeben, der reichlich Myrosin enthielt. Dann wurde die Mischung in geschlossenem Gefäß in einen Thermostaten gestellt (bei 30°):

Das Vorhandensein von flüchtigen Senfölen konnte nach dem mehr oder weniger starken spezifischen Geruch von Rettich oder Knoblauch festgestellt werden.

Die Resultate dieser Beobachtungen sind in der Tabelle C angeführt.

Diese Tabelle zeigt, daß verschiedene Gattungen einer Art verschiedene Mengen von Senföl enthalten können, was deutlich aus dem charakteristischen Geruch hervorgeht.

Stellt man dieser Tabelle die auf Tabelle A angeführten Daten über die Anzahl der Infektionsfälle gegenüber, so fällt der Parallelismus zwischen der Widerstandsfähigkeit und dem Gehalt an flüchtigen Senfölen ins Auge. Der Grad der Empfänglichkeit wächst parallel mit der Verminderung des Gehalts an scharfriechenden Senfölen. Vergleicht man auf Grund einschlägiger Literatur und auf Grund eigener Daten die Empfänglichkeit der Cruciferen gegen Kohlhernie und die biochemischen Eigenschaften dieser Pflanzen, so kommt man zu denselben Schlußfolgerungen (siehe Tabelle B).

Folglich ist aus dieser Tabelle erstens ersichtlich, daß die Empfänglichkeit gegen Kohlhernie unter den Cruciferen eine verschiedene ist, nicht nur in den verschiedenen Gattungen, sondern auch in den Arten ein und derselben Art. Zweitens geht deutlich die Abhängigkeit der Widerstandsfähigkeit von dem Gehalte flüchtiger Senföle daraus hervor. Den größten Effekt im Sinne der Schutzfunktion erzielen die infolge einer Spaltung von Sinigrin entstanden Senföle, Glukonasturtiin und das mit dem letzteren identische Glukotropäolin, ebenso Glukocochlearin, welche sämtlich die echten flüchtigen, aromatischen Senföle geben.

Tabelle C.

Name der Pflanze	
Brassica nigra	+ + + [1])
Thlaspi oliveri Eng.	+ + +
Cochlearia officinalis	+ + +
Isatis glauca	+ + +
Isatis tinctoria	+ + +
Barbarea vulgaris	+ +
Barbarea bracteosa Guss.	+ +
Iberis amara	+ +
Heliophila amplexicaule	+ +
Aubrietia deltoidea	+ +
Hesperis fragrans	+ +
„ *matronalis var. nana*	+ +
„ *alpina*	+ +
Malcolmia maritima	+ +
Draba subamplexicaulis C. A. M. . . .	+
Biscutella auriculata	+
Barbarea plantaginea	+
Arabis alpina	+
Iberis umbellata	+
Sinapis alba	+
Sisymbrium irio	+
Hesperis lutea	—
Brassica sinapis arvensis	—
Brassica oleracea (Braunschweiger Kohl)	—

In der Praxis ist von größter Wichtigkeit die Widerstandsfähigkeit ganzer Sorten. In der Familie der Cruciferen unterscheidet man unter den Kulturpflanzen, die zum Anbau gelangen, Sorten mit verschiedenem Grade ihrer Widerstandsfähigkeit gegen *Plasmodiophora*. Andererseits finden sich Unterschiede zwischen ganzen Sorten in bezug auf ihren Gehalt an Senfölen. Hingewiesen sei auf Jörgensen, Kinzel, Förster, Wehmer u. a.

In den Arbeiten von Ssacharoff, Cunningham, Naumov u. a. finden wir eine ganze Reihe von Hinweisen auf die Widerstandsfähigkeit verschiedener Sorten von Kohl, Rüben, Rettich, Radies und anderer zum Anbau gelangender Cruciferen gegen die Kohlhernie.

Einer dieser Autoren — Ssacharoff — meint u. a., daß von verschiedenen Rübensorten diejenigen mit dem zuckerreichsten Zellsaft am stärksten der Infektion erlagen, und daß Rüben mit scharfem Zellsaft überhaupt nicht infiziert wurden. Im Lichte unserer Untersuchungen wird diese Behauptung Ssacharoffs verständlich. Die durch „scharfen Zellsaft“, d. h. durch Vorhandensein von scharfen Senfölen sich

[1]) + + + Außerordentlich starker Geruch.
+ + Starker Geruch.
+ Schwacher Geruch.
— Kein Geruch.

auszeichnenden Sorten von Rüben, Rettich und Radies erwiesen sich als die widerstandsfähigsten gegen Kohlhernie.

Einige Aufmerksamkeit verdienen auch folgende unserer Beobachtungen, obgleich sie noch der Nachprüfung an vermehrtem Material bedürfen. Der Versuch sollte klarstellen, ob die Pflanzen an Kohlhernie erkranken, wenn man gleichzeitig mit scharfen Senfölen operiert. Für den Versuch wurden in der Regel 100 % Infektionsfälle aufweisende Pflanzen gewählt, nämlich Braunschweiger Kohl.

Die stark mit Sporen der *Plasmodiophora brassicae* versetzte Erde wurde reichlich mit Samenextrakt des scharf riechenden schwarzen Senfs benetzt. In den so vorbereiteten Boden wurden Samen von Braunschweiger Kohl gelegt und systematisch mit Samenextrakt des schwarzen Senfs enthaltendem Wasser begossen.

Von den ausgewachsenen Pflanzen waren 80 % ganz gesund, 20 % dagegen wiesen unbedeutende Schwellungen auf.

Ein Kontrollversuch mit Samen von Braunschweiger Kohl, in dieselbe infizierte Erde gebracht, ohne sie mit dem Extrakt aus *Brassica nigra* zu begießen, ergab 100 % Erkrankungen.

Dieser Versuch weist also ebenfalls auf die Schutzrolle der Senföle hin.

Die Klarstellung der die Widerstandsfähigkeit der Cruciferen gegen *Plasmodiophora brassicae* bedingenden Faktoren gab die Möglichkeit, näher an die Frage der Bekämpfung dieses Parasiten heranzugehen. Es gibt schon eine ganze Reihe wertvoller Methoden zur Bekämpfung der Kohlhernie. In der Hauptsache wird dies erreicht durch Zugabe von Kalk, da dieser die Bodensäuren neutralisiert, wie auch durch Ersatz der Mistdüngung durch Mineraldüngung, d. h. Kali- und Phosphordüngung. Nach Wester erhöht eine Düngung mit hohem Stickstoff-, Phosphor- und Kaligehalt nicht nur die Keimfähigkeit der Pflanzen, sondern auch in hohem Maße den Gehalt an Senfölen.

Folglich wird die Widerstandsfähigkeit der Pflanzen gegen Kohlhernie gerade infolge der Erhöhung des Gehaltes an Senfölen durch entsprechende Düngung erhöht.

Eine radikalere Maßnahme zur Bekämpfung dieser Krankheit ist jedoch die Selektion der gegen Kohlhernie widerstandsfähigen Sorten und ihre Kreuzung mit empfänglicheren, zwecks Erhaltung neuer widerstandsfähiger Formen.

In Anbetracht dessen, daß flüchtige Senföle enthaltende Pflanzen widerstandsfähiger sind, kommt man zu dem Schluß, daß die Kreuzung wenig widerstandsfähiger Sorten mit besagten Schutzfaktor (scharf riechende flüchtige Senföle) enthaltenden Sorten, widerstandsfähigere Sorten ergeben würde. Eine Kreuzung würde in gegebenem Falle um so mehr an Bedeutung gewinnen, als es G. D. Karpetschenko (Institut für Pflanzenzucht) in den letzten Jahren gelungen ist, tetraploide Rettich-Kohl-Hybriden

zu ziehen. Diese Hybriden besitzen neue morphologische, anatomische und physiologische Eigenschaften. Noch mehr, es gelang eine Kreuzung der Rettich-Kohl-Hybriden mit Senf, Raps, gelber Rübe, wildem Rettich und chinesischem Kohl. Auf dem Wege der Kreuzung des fast gar keine Senföle enthaltenden Kohles mit Rettich, Senf, Rübe u. a. genannten Cruciferen, die deren in Menge enthalten, wird es vielleicht gelingen, gegen die Kohlfäule widerstandsfähigere Kohlsorten zu schaffen.

Wir möchten in dieser Arbeit die große Bedeutung der biochemischen Faktoren hervorheben, ebenso auch eine gewisse Bedeutung anatomischer Eigenheiten der Pflanze.

Es ist jedoch zur Erklärung der Widerstandsfähigkeit gewisser Pflanzen gegen die Kohlhernie gewiß notwendig, die Gesamtheit aller Faktoren in Rechnung zu ziehen, welche die Erkrankung oder die Widerstandsfähigkeit der Pflanze bestimmen, nämlich die Eigenschaften des Parasiten, den Einfluß des Mediums, der Temperatur, der Feuchtigkeit, des Säuregehalts, besondere Eigenschaften des Bodens, des Klimas usw.

Ich erlaube mir, Herrn Prof. N. A. Naumov für die Anleitung bei vorliegender Arbeit meinen tiefgefühlten Dank auszusprechen.

Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit wurden die die Widerstandsfähigkeit der Cruciferen gegen *Plasmodiophora brassicae* Wor. bedingenden Faktoren beleuchtet.

Wildwachsende und Kulturpflanzen aus der Familie der Cruciferen wurden in Boden gesetzt, der stark mit Sporen der *Plasmodiophora brassicae* infiziert war. Der Prozentsatz der Erkrankungen wurde genau festgestellt.

Die Resultate der Versuche sind in Tabelle A angeführt: hier ist die Anzahl der gekeimten Pflanzen und der Prozentsatz der Erkrankungen angegeben.

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß die Stellung einer Pflanze innerhalb eines Systems den Grad ihrer Widerstandsfähigkeit nicht bestimmt.

Sowohl empfängliche als widerstandsfähige Gattungen der Cruciferen sind genau untersucht worden, wobei besondere Rücksicht auf den anatomischen Bau und die chemische Zusammensetzung genommen wurde, zwecks Klarstellung der die Immunität bedingenden Faktoren.

Von den Organen der Pflanze wurde besonderes Interesse auf die Wurzel verwendet, da sie unter gewöhnlichen Umständen zuerst erkrankt.

Aus diesen Untersuchungen geht deutlich hervor, daß der primäre Wurzelbau die Widerstandsfähigkeit einer Pflanze gegen Kohlhernie nicht erklärt, da sowohl erkrankte als auch unempfängliche Pflanzen den gleichen primären Wurzelbau aufweisen. Wenn jedoch die Infektion der Pflanzen in den ersten Entwicklungsstadien derselben unabhängig von anatomischen Eigenschaften der Pflanze vor sich geht, so können doch bei reifen Pflanzen sowohl Korkrinde und Kollenchym als auch kompakterer

Bau des Xylems bis zu einem gewissen Grade das Eindringen und die Verbreitung des Parasiten verhindern.

Was das Eindringen des Parasiten in die Pflanze betrifft, so geschieht dies durch die Wurzelhaare (Abb. 2) und die Epidermiszellen (Abb. 3). Die Verbreitung des Parasiten in den Geweben geht sowohl auf aktivem (Abb. 5) als auch auf passivem Wege (Abb. 7) vor sich.

Die Zellwände der Pflanze werden unter dem Einfluß des Parasiten aufgelockert (Abb. 5 und 6), zugleich ändert sich ihre chemische Zusammensetzung. Das Studium der biochemischen Eigenschaften zeigte, daß in der Familie der Cruciferen, die bei Spaltung durch das Ferment Myrosin flüchtige Senföle mit außerordentlich scharfem Geruch gebenden Senfölglukoside Schutzeigenschaften besitzen.

Diese flüchtigen Senföle sind es, die den Pflanzen Widerstandsfähigkeit gegen die Kohlhernie geben. In der Familie der Cruciferen sind die scharf riechende, flüchtige Senföle gebenden Glukoside hauptsächlich Sinigrin, Glukonasturtiin, Glukotropäolin und Glukocochlearin. Das Glukosid Sinalbin gibt keine flüchtigen Senföle und daher ist sein Vorhandensein kein Schutz gegen die *Plasmodiophora brassicae.*

Tabelle B zeigt den Zusammenhang zwischen dem Grad der Infektion, dem Vorhandensein von Senfölglukosiden und dem Typus des Wurzelbaues.

Aus dieser Tabelle geht deutlich der Parallelismus zwischen Widerstandsfähigkeit und dem Gehalt an flüchtigen Senfölen hervor. Das entspricht auch den Versuchen von Kossowitz, der bei einer Konzentration flüchtiger Senföle von 1 : 10000 völligen Stillstand in Wuchs und Entwicklung von Bakterien erhielt.

Von Interesse sind in dieser Beziehung auch die Hinweise Ssacharoffs, daß Sorten von Rüben bildenden Cruciferenarten mit zuckerreichstem Zellsaft am heftigsten erkrankten, dagegen Rübensorten mit scharfem Zellsaft gar nicht erkrankten. Diese Beobachtungen bekräftigen unsere Schlußfolgerungen.

Wenn das Vorhandensein flüchtiger Senföle in der Pflanze derselben tatsächlich Widerstandsfähigkeit gegen die Kohlhernie verleiht, so kommt man zu folgendem Schluß:

Durch Kreuzung von Sorten mit geringer Widerstandsfähigkeit mit den den genannten Schutzfaktor enthaltenden Sorten wird es vielleicht gelingen, widerstandsfähigere Sorten zu erzielen.

Literaturverzeichnis.

1 Abderhalden, E., Biochemisches Handlexikon, 1911, Bd. II, S. 714 und Bd. IV, S. 918.

2 Appel und Werth, Infektionsversuche mit *Plasmodiophora brassicae* Wor. Mitt. d. K. Biol. Anstalt, 1910, Bd. X, S. 918.

3 Bondartzeff, Untersuchungen über Bekämpfung *Plasmodiophora brassicae.* „Boljezni Rastienij“, 1909, S. 109 (russisch).

4 Bremer, H., Untersuchungen über Biologie und Bekämpfung *Plasmodiophora brassicae* Wor. Landw. Jahrbücher 59, H. 5, S. 673.

5 Combes, R., Recherches biochimiques expérimentales sur le rôle physiologique des glukosides chez les végétaux. Revue générale de Botanique, 1917, T. 29, p. 320.

6 Cunningham, G. C., The comparative susceptibility of Cruciferous plants to *Plasmodiophora brassicae.* Phytopathology, 1912, Vol. 2, p. 138.

7 Cunningham, G. C., Studies of club-root. II. Disease resistance of Cruciferes; methods of combating club-root. 1914, V. Agr, Exp. Stat. Bul.

8 Czapek, Fr., Biochemie der Pflanzen. I. Aufl., Jena 1905; II. Aufl., Jena 1914, 1923.

9 Dennert, Cruciferen. Wigands bot. Hefte 1887, Heft 1.

10 Errera, L., L'efficacité des structures défensives des plantes. Soc. Botan. Belg., 1886, T. 25, II, p. 80.

11 Faworski, Neue Ergebnisse zur Cytologie und Entwicklungsgeschichte von *Plasmodiophora brassicae* (russisch). Zapiski Kievsk. Obsch. Est. 1910, XX, Nr. 4, S. 149—183.

12 Freeman, E. M., Resistance and immunity in plant diseases. Phytopathology, 1911, 1, Nr. 4, S. 109.

13 Gadamer, Archiv der Pharmazie, 1897, **235**, S. 44 und 577.

14 Gadamer, Ibid. 1899, **237**, S. 111 und 510.

15 Guignard, L., Sur la localisation des principes qui fournissent les essences sulfurées des Crucifères. Compt. rend. 1890, T. CXI, p. 249 et 920.

16 Guignard, L., Sur la localisation des principes activs des Crucifères. Journal de Botanique, 1890, 4, p. 385, 412, 435.

17 Guignard, L., Sur quelques propriétés chimiques de la Myrosin. Bull. Soc. Bot. de France, 1894, I, q. 418.

18 Halsted, B. D., Club-root of cabbage and its allies. New Jersey Agr. Exp. St. Bull., 1893, 98, p. 10—13.

19 Heinricher, E., Bericht der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 1884, **2**, S. 263.

20 Jones, Ph. M., The relation of environment to disease in plants. Amer. Journ. of Bot. 1924, XI, p. 601—609. (Rev. Appl. Myc. 1925, p. 304).

Jones, Ph. M., Morphology and cult. history of *Plasmodiophora brassicae.* Archiv für Protistenkunde, 1928, Bd. 62, S. 313.

21 Jörgensen, G., Untersuchungen über die aus Rapskuchen gewonnenen flüchtigen Senföle. Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen, 1899, Bd. 52, S. 269.

22 Karpetschenko, G. D., Genetische Untersuchungen an Cruciferen (russisch). Arbeiten des Instituts für Pflanzenzucht und Landwirtschaft in Leningrad. 1922—23, S. 4—14, Bd. XIII.

23 Katterfeld, N. O., Einige Untersuchungen über *Plasmodiophora brassicae* Wor. „Boliezni Rastienij“, 1923, Nr. 1, S. 11 (russisch).

24 Kinzel, W., Über die Samen einiger Brassica- und Sinapis-Arten usw. Die Landwirtschaftlichen Versuchsstationen, 1899, Bd. 52, 169.

25 Kunkel, L. C., Tissue invasion by *Plasmodiophora brassicae*. Journ. of Agricult. Research, 1918, Vol. XIV, Nr. 12, p. 543.

26 Kossowitz, A., Über das Verhalten der Bakterien zu Sinigrin. Zeitschrift für das Landwirtschaftliche Versuchswesen in Österreich, 1905, VIII. Jahrgang, Heft 7.

27 Lohrer, O., Beiträge zur anatomischen Systematik. Wurzeln. Wigands Botanische Hefte, 1887, 4, II, S. 9.

28 Lutmann, B. F., Studies on the club-root. Vermont Agr. Exp. St. Bull., 1913, S. 175.

29 Nawaschin, S., Beobachtungen über den feineren Bau und Umwandlungen von *Plasmodiophora brassicae* Wor. im Laufe ihres intracellularen Lebens. Flora 1899. Jahrg. 86, S. 404.

30 Naumow, N. A., Beiträge zur Kenntnis der Kohlhernie (russisch). „Boliezni Rastienij", 1925, p. 49—72.

Naumow, N. A., Beiträge zur Kenntnis der Kohlhernie, II (russisch). „Boliezni Rastienij", 1928.

31 Ssacharoff, M., Über Widerstandsfähigkeit einiger Kohlsorten und anderer Cruciferen gegen *Plasmodiophora brassicae*. Arbeiten der Phytopathologischen Station des Instituts für Landwirtschaft in Moskau, 1916, 1 (russisch).

32 Schaffnit und Volk, Beiträge zur Kenntnis der Wechselbeziehungen zwischen Kulturpflanzen, ihren Parasiten und der Umwelt. Phythopathologische Zeitschrift, 1930, Bd. 1, Heft 6, S. 535.

33 Schweidler, J. H., Die Eiweiß- oder Myrosinzellen der Gattung *Arabis* L. Beih. Botanisches Centralblatt 1910, XXVI, S. 422.

34 Schweidler, J. H., Die systematische Bedeutung der Eiweiß- oder Myrosinzellen der Cruciferen. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 1905, Bd. XXIII, S. 274.

35 Smith, W. J., Club-root of turnips, cabbages . . . Diseases of field- and garden crops. 1884, p. 94.

36 Vavilov, N., Immunity of Plants to Infections Diseases. Moskau 1919.

37 Wehmer, C., Die Pflanzenstoffe. Jena 1911. S. 246.

38 Wellman, F. L., Club-root of Crucifers. Technical Bulletin Nr. 181 United States Department of Agriculture Washington, D. C. 1930.

39 Wester, D. H., Berichte der pharm. Gesellschaft, 1914, Bd. 24, 123.

40 Woronin, *Plasmodiophora brassicae*. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. XI, 1878, S. 548—574.

Personalnachrichten.

Prof. Dr. Gaßner, Braunschweig, ist als Präsident der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Berlin-Dahlem berufen worden. Der bisherige Direktor Geheimer Oberregierungsrat Prof. Dr. Appel tritt im Jahre 1933 in den Ruhestand.

Druckfehlerberichtigung.

In der Arbeit Demmler: Zur Physiologie von Cladosporium muß es in der Tafel auf Seite 295, 17, Jan. 31 Reihe 1/20 Mol Ammonsulfat heißen: Erntegewicht 0,153 g, nicht 1,153 g.

Neue Wege zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes durch Beizung.

Von

G. Gaßner.

Inhaltsübersicht: 1. Einleitung und Fragestellung. — 2. Versuchsmaterial und Methodisches. — 3. Die Wirkung von Warmwasserbädern konstanter Temperatur. — 4. Die Beizwirkung chemischer Stoffe im Warmwasserbad: Grundsätzliches; Versuche mit Äthylalkohol; Versuche mit anderen organischen C-Verbindungen. — 5. Die Möglichkeit der Flugbrandbekämpfung durch Warmbenetzungsbeize. — 6. Hauptinhalt. — 7. Schriftenverzeichnis.

1. Einleitung und Fragestellung.

Während uns die letzten Jahrzehnte eine überaus große Zahl von Untersuchungen gebracht haben, die sich mit dem Steinbrand des Weizens und anderen durch chemische Beizung bekämpfbaren Krankheiten befassen, liegen über die durch Blüteninfektion übertragbaren Flugbrandarten des Weizens und der Gerste nur sehr wenig neuere Untersuchungen vor. Nach der Entdeckung der Blüteninfektion durch Brefeld (7) und Hecke (11, 12) machte sich zunächst (Lindau, 22, S. 342) ein gewisser Pessimismus bezüglich der Bekämpfungsmöglichkeit dieser Krankheit durch Saatgutbehandlung bemerkbar, dem Falck (8) 1908 dahin Ausdruck gab, „daß derartig infiziertes Saatgut weder durch die üblichen chemischen Beizmittel noch durch die Heißwasser-Beizmethode entbrandet werden kann. Die Infektionskeime sitzen hier eben nicht äußerlich an der Oberfläche des Saatgutes, sondern sie sind im Innern eingeschlossen und können nicht abgetötet werden, ohne daß das Saatkorn selbst in gleicher Weise angegriffen wird“. Appel und Riehm haben durchaus recht, wenn sie für diese Periode der Flugbrandforschung sagen (5, S. 348), daß „so fast die bedeutende Entdeckung der Blüteninfektion einen Rückschritt in der Bekämpfungsfrage mit sich gebracht hätte“.

Denn grundsätzlich war die Frage der Flugbrandbekämpfung durch die Heißwasserbeize bereits gelöst, als Brefeld (7) und Hecke (11, 12) uns 1904/05 mit dem Wesen der Blüteninfektion bekannt machten. Die ersten Vorschläge von Jensen (15, 16), den Flugbrand der Gerste mit Warmwasser zu behandeln, gehen in das Jahr 1888 zurück; die hier angegebene Methodik wurde dann später von dem gleichen Autor noch mehrfach modifiziert (17, 1891; 18, 1895). Weitere erfolgreiche Versuche mit Warmwasser liegen 1890 von Kellermann und Swingle (19), 1895 und 1898 von Swingle (39,40), 1898 von Hickman und Selby (13), 1900 von Mansholt (23) vor.

Die nähere Begründung und der Ausbau der Warmwasserbeize in ihrer gegenwärtig meist angewandten Form, sowie ihre Einführung in die landwirtschaftliche Praxis gehen auf die 1907—1911 erschienenen Arbeiten von Appel und seinen Mitarbeitern Gaßner und Riehm (1—5) zurück. Etwa in die gleiche Zeit fallen die Untersuchungen von H. Lang 1908 (21), Schander 1910 (27,28), Störmer 1908—1912 (32—38), etwas später liegen die Arbeiten von Oetken 1913 (25) und Spieckermann 1914 (31). Seitdem sind größere oder besonders wichtige Arbeiten auf dem Gebiete der Flugbrandbekämpfung nicht veröffentlicht, wenn wir von einer Mitteilung Hollrungs aus dem Jahre 1921 (14) absehen, die sich erneut mit dem Lauwasserbad als Ersatz der sonst üblichen Behandlung mit Vorquellung und nachfolgender Heißwasserbeize befaßt. Die aus dem Botanischen Institut Braunschweig und dem Laboratorium der Saatzuchtwirtschaft Strube-Schlanstedt 1924 hervorgegangene Dissertation von A. Schaumburg (29) ist nicht im Druck erschienen; sie enthält in der Hauptsache Ergänzungen zu den Untersuchungen von Appel und Riehm.

Fortschritte in den Methoden zur Bekämpfung des Weizen- und Gerstenflugbrandes sind also etwa seit dem Jahre 1911, d. h. seit den grundlegenden Arbeiten von Appel und Riehm (5) und den vorerwähnten, annähernd gleichzeitig erschienenen Untersuchungen einiger anderer Autoren nicht erzielt. Die Bekämpfung des Flugbrandes erfolgt auch heute noch meist genau in der von Appel und Riehm im Anschluß an die Untersuchungen Jensens (15—18) vorgeschlagenen Form einer mehrstündigen Vorquellung bei Temperaturen von 25—30° und daran anschließender Behandlung mit Wasser höherer Temperatur (zirka 48—52°); anstelle der letzten läßt sich mit Erfolg auch die Heißluftbehandlung anwenden, die so gewählt werden muß, „daß das Getreide etwa 5 Minuten auf 50° C erhitzt wird“ (Appel und Riehm, 5, S. 425). Die zuerst von Störmer (32—38) vorgeschlagene, dann auch von anderer Seite (Spieckermann 31, Oetken 25, Hollrung 14) mit Erfolg verwendete „Lauwasserbehandlung“, bei welcher das Getreide längere Zeit in Wasser von 30 bis 45° gehalten wird, hat sich anscheinend nicht in gleicher Weise in die Praxis eingeführt wie die Behandlung mit Vorquellung und nachfolgender Wärmeeinwirkung.

Den äußeren Anstoß zu den folgenden eigenen Untersuchungen ergaben Beobachtungen über außerordentlich schwere Schäden durch Weizenflugbrand, die ich auf einer mit Unterstützung der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft 1927 nach den südamerikanischen Weizenbaugebieten durchgeführten Studienreise machen konnte; hier gilt vielfach der Weizenflugbrand für gefährlicher als der Steinbrand. In den letzten Jahren haben Weizen- und Gerstenflugbrand auch in Deutschland wieder außerordentlich an Bedeutung gewonnen. Die Hoffnungen, welche auf die Immunitätszüchtung gegen Flugbrand gesetzt waren, haben sich bisher nicht verwirk-

licht; die von verschiedenen Seiten gemachten Feststellungen über das Vorhandensein biologischer Rassen innerhalb des Weizenflugbrandes (Grevel, 10, u. a.) lassen für die Zukunft die Frage der Immunitätszüchtung noch schwieriger erscheinen und weisen mit erhöhtem Nachdruck auf die Notwendigkeit der direkten Bekämpfung des Flugbrandes hin (vgl. Plaut 26).

Wenn sich die Beizung des Saatgutes gegen Flugbrand trotzdem in die landwirtschaftliche Praxis bisher so wenig eingeführt hat und in nennenswertem Maße nur von den Pflanzenzüchtern — und auch hier durchaus nicht überall — angewendet wird, so liegt das an den bekannten Schwierigkeiten und Nachteilen der Warmwasserbeize. Diese ist im Vergleich zu den anderen Beizverfahren sehr umständlich und wird nicht nur durch die unvermeidbaren besonderen technischen Einrichtungen, sondern vor allem auch dadurch recht kostspielig, daß ein hoher Arbeitsaufwand erforderlich ist. Die Warmwasserbeize enthält weiter starke Gefahrenmomente, da man zur Erzielung einer sicheren Wirkung bis dicht an die Schädigungsgrenze herangehen oder diese sogar schwach überschreiten muß. Besonders störend ist die Rücktrocknung des gebeizten Getreides, das während der Warmwasserbehandlung große Flüssigkeitsmengen aufgenommen hat.

Aus diesen eben genannten Übelständen ergeben sich ohne weiteres die Richtlinien, welche wir allen Verbesserungsversuchen des bisherigen Verfahrens zugrunde legen müssen. Es muß sich in erster Linie darum handeln, die Warmwasserbeize zu vereinfachen und sie ungefährlicher zu gestalten; gleichzeitig kommt es darauf an, zwecks Erleichterung der Rücktrocknung die Wasseraufnahme während des Beizvorganges herabzusetzen.

Die Vereinfachung des Beizverfahrens wurde in den folgenden Untersuchungen zunächst dadurch angestrebt, daß von der Trennung in Vorquellprozeß und eigentlichen Beizvorgang Abstand genommen und dafür die Dauerbehandlung bei einer bestimmten Temperatur, also das „Lauwasserverfahren“ im Sinne von Störmer (36, 38 u. a. O.) und Hollrung (14) herangezogen wurde. Da es sich darum handelt, die Beizdauer möglichst abzukürzen und die Einwirkung kritischer höherer Temperaturen zeitlich zu beschränken, wurde die Frage der Steigerung der Beizwirkung des Warmwassers durch chemische Stoffe einer besonderen und — wie hier schon erwähnt sei — in weitem Umfang erfolgreichen Prüfung unterzogen. Und schließlich wurde auch trotz aller zunächst vorliegenden grundsätzlichen Bedenken die Bekämpfung des Flugbrandes im reinen Benetzungsverfahren versucht, weil hierbei in weitestem Maße die Möglichkeit besteht, die so störende Wasseraufnahme während des Beizvorganges auf ein Mindestmaß zu beschränken.

Die Versuche sind in den Jahren 1929 bis 1932 durchgeführt und auch heute noch nicht abgeschlossen. Jedoch rechtfertigen die bisher

erzielten Ergebnisse die jetzt schon erfolgende Veröffentlichung, zumal ich mir hierdurch die dringend erforderliche Mitarbeit weiterer Kreise auf diesem wichtigen Gebiet verspreche; denn die Empfehlung eines neuen Verfahrens für die breite Praxis hat naturgemäß die vorherige Ausprobung in möglichst zahlreichen und unter den verschiedensten Bedingungen durchgeführten Versuchen zur Voraussetzung.

Für die Unterstützung bei der Durchführung und Ablesung der Versuche bin ich den Herren Dr. Rabien, Dr. Hassebrauk und Gartenbauinspektor Rössger zu Dank verpflichtet. Ganz besonderen Dank schulde ich der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, welche die für die Untersuchungen erforderlichen Mittel zur Verfügung gestellt hat.

2. Versuchsmaterial und Methodisches.

Alle in den nachfolgenden Abschnitten wiedergegebenen Versuche erstrecken sich auf Weizenflugbrand; von der gleichzeitigen Durchführung von Versuchen mit flugbrandhaltiger Gerste wurde zunächst Abstand genommen, da der Weizenflugbrand erfahrungsgemäß höhere Ansprüche an die Beizung stellt als der leichter zu bekämpfende Gerstenflugbrand [Appel und Riehm (5), Störmer (36) u. a.]. Die Prüfung gegen Weizenflugbrand gibt also ein schärferes Kriterium für den Wert einer Bekämpfungsmethode ab.

Der zu den Versuchen verwendete flugbrandhaltige Weizen stammt von einem Weizenfelde, das ich 1927 in der argentinischen Provinz Santa Fé besichtigte. Der von hier bezogene „Santa Fé-Weizen“ zeigte in den Versuchen des Jahres 1929 fast 30 % Flugbrand; der Befall des durch eigenen Nachbau erhaltenen Saatgutes war geringer, betrug jedoch auch 1932 immer noch durchschnittlich mindestens 12 %. Der hohe Flugbrandbefall gestattete die Verwendung verhältnismäßig kleiner Parzellen, was im Hinblick auf die Vielgestaltigkeit des Versuchsplanes und die hohe Zahl der erforderlichen Einzelversuche eine unbedingte Notwendigkeit war.

Die Aussaat der Versuche erfolgte auf dem Versuchsfelde Gliesmarode in mehrfacher Wiederholung; für die Feststellung der Ergebnisse wurden nicht Ähren, sondern aus naheliegenden Gründen gesunde und kranke Pflanzen ausgezählt. Von der Wiedergabe von Keim- und Triebkraftbestimmungen des gebeizten Saatgutes ist im Hinblick auf die Übersichtlichkeit und Kürze der Darstellung abgesehen; gewisse Anhaltspunkte über etwa auftretende stärkere Beizschäden geben die Zahlenwerte der in jeder Versuchsreihe im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollparzellen vorhandenen Pflanzen. Jedoch ist Vorsicht bei der Beurteilung dieser Zahlen insoweit geboten, als es sich um Feldversuche handelt, bei denen Unregelmäßigkeiten auch durch andere Faktoren, insbesondere Vogelfraßschäden bedingt sein können.

Die Beizung im *Tauchverfahren* wurde in der Weise durchgeführt, daß die Körner in Kolben mit einer reichlichen Menge Wasser bzw. Beizflüssigkeit von Zimmertemperatur gebracht wurden; die so beschickten Glaskolben wurden dann zur schnellen Annahme der Temperatur in ein Wasserbad gestellt und daran anschließend in Thermostaten gehalten. Nach Beendigung der Beizung wurden die Körner *ohne* Abschrecken oder Abspülen auf Filtrierpapier ausgeschüttet und bei Zimmertemperatur getrocknet.

Die Durchführung der *Benetzungsbeize* erfolgte in ähnlicher Weise, nur daß kleinere Flüssigkeitsmengen (5—10 l je Ztr.) zur Anwendung kamen, und daß die benutzten Gefäße während der Beizung geschlossen gehalten wurden. Die mit Saatgut und Beizflüssigkeit beschickten Kolben und Glasflaschen wurden zunächst gut und mehrfach durchgeschüttelt, dann im Warmwasserbad schnell temperiert und in Thermostaten der betreffenden Temperaturen übertragen, wo sie *ohne* weiteres Durcharbeiten bis zum Versuchsschluß blieben. Das Trocknen erfolgte auch hier auf Filtrierpapier und bei Zimmertemperatur.

3. Die Wirkung von Warmwasserbädern konstanter Temperatur.

Die Versuche dieses Abschnittes enthalten insoweit nichts wesentlich Neues, als bereits *Störmer* (38 u. a. O.), *Oetken* (25) u. a. den Nachweis erbracht haben, daß nicht nur die von *Jensen* (15—18) und dann vor allem von *Appel* und *Riehm* (4, 5) in Vorschlag gebrachte Heißwasser- bzw. Hitzebehandlung nach Vorquellen, sondern auch Warmwasserbäder konstanter Temperatur erfolgreich zur Flugbrandbekämpfung verwendet werden können. Die Wiedergabe der eigenen diesbezüglichen Versuche läßt sich jedoch im Zusammenhang mit den Ausführungen des folgenden Abschnittes nicht umgehen. Die Ergebnisse eines Teiles der mit Warmwasserbädern von 35° und 40° durchgeführten Versuche sind in den folgenden Tabellen 1 und 2 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Wirkung des Warmwasserbades von 35°.

(Zusammenstellung verschiedener Versuchsreihen.)

Dauer der Behandlung	Brandbefall der *gebeizten* Parzellen			Brandbefall der unbehandelten *Kontroll*parzellen		
Stunden	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %
6	262	60	**18,6**	252	63	**20,0**
9	311	36	**10,4**	246	53	**17,7**
4	350	35	**9,1**			
6	302	37	**10,9**			
8	326	32	**8,9**	346	46	**11,7**
12	325	20	**5,8**	294	30	**9,3**
18	313	4	**1,3**			
24	342	0	**0**			

Tabelle 2.

Wirkung des Warmwasserbades von 40°.

(Zusammenstellung verschiedener Versuchsreihen.)

Dauer der Behandlung	Brandbefall der gebeizten Parzellen			Brandbefall der unbehandelten Kontrollparzellen		
Stunden	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %
3	242	40	14,2	264	54	17,0
6	253	4	1,6	236	52	18,1
10	243	0	0			
4	378	32	7,8	311	43	12,1
6	363	27	6,9	344	35	9,2
8	344	0	0			
4	400	37	8,5	340	34	9,1
5	359	28	7,2	342	35	9,3
6	352	11	3,0	354	34	8,8
6	2130	165	7,2	2022	678	25,1
6	562	58	9,4	498	165	24,9
6	260	16	5,8	270	64	19,2
6	272	12	4,2	247	44	15,1
6	271	14	4,9	285	53	15,7
6	715	26	3,5	803	118	12,8
6	660	27	3,9	632	113	15,2
6	852	53	5,9	863	118	12,0

Danach gelingt es, durch ein etwa 24stündiges Warmwasserbad von 35° und durch ein 8–10stündiges Bad von 40° den Flugbrandbefall gänzlich zu beseitigen; kürzere Behandlungsdauer wirkt unvollständig, insbesondere ist eine 6stündige Behandlung mit Wasser von 40° in keinem einzigen Fall ausreichend, wenn auch hier eine Beizwirkung schon unverkennbar ist.

Diese Ergebnisse stimmen mit den Angaben der älteren Autoren recht gut überein. Störmer (38 u. a. O.) empfiehlt zur Bekämpfung des Weizenflugbrandes eine 12stündige Dauerbehandlung mit Wasser von 40°; Oetken (25) findet völlige Abtötung durch Wasser von 40—45° nach 8—10 Stunden, von 35—40° nach 22 Stunden, von 30—35° nach mehr als 24 Stunden. Appel und Riehm (5) geben für 6stündiges Quellen in Wasser von 40° „eine starke Verminderung des Brandes“ an.

4. Die Beizwirkung chemischer Stoffe im Warmwasserbad.

Grundsätzliches.

Versuche zur Bekämpfung des Weizen- und Gerstenflugbrandes mit chemischen Mitteln liegen seit langem vor (vgl. Appel und Riehm 5, Störmer 33, u. a.), haben jedoch, abgesehen von vereinzelten Angaben, die aber noch der Bestätigung bedürfen, zu keinem Erfolge geführt. Auch die neueren Versuche von Winkelmann (42), in welchem die bekannten

Beizmittel Germisan, Uspulun u. a. teils für sich, teils in Kombination mit Warmwasserbädern zur Anwendung kamen, konnten nur von neuem zeigen, daß es nicht möglich ist, die Wirkung der Heißwasserbeize durch chemische Stoffe zu ersetzen oder zu verbessern.

Schon aus allgemeinen Erwägungen heraus erscheint es sehr unwahrscheinlich, daß die heute verbreiteten, meist auf der Quecksilber-, Kupfer- oder Arsenbasis aufgebauten Beizmittel auf den im Innern des Korns befindlichen Pilz einwirken können; bei schwachen Konzentrationen läßt die Tiefenwirkung wegen der an der Oberfläche stattfindenden Adsorptionserscheinungen zu wünschen übrig, während es bei stärkerer Anwendung zur Vergiftung der inneren Gewebeteile des Korns, also zu Beizschäden kommt. Aus diesen Gründen ist in unseren eigenen Versuchen völlig von der Heranziehung der eben erwähnten Beizmittel abgesehen; die negativen Befunde, zu denen Winkelmann (42) in seinen unlängst veröffentlichten Untersuchungen mit chemischen Beizmitteln des Handels gekommen ist, sprechen für die Richtigkeit der eben vertretenen Auffassung.

Es mußten also ganz neue Wege eingeschlagen werden, wenn überhaupt Aussicht bestehen sollte, auf dem Gebiete der chemischen Flugbrandbekämpfung Fortschritte zu erzielen. Den Ausgangspunkt der folgenden Untersuchungen bildet der Vergleich zwischen den bei Frühtreiben ruhender Pflanzenteile mittels Warmwasser vorliegenden Verhältnissen und denjenigen Vorgängen, welche sich während der zur Flugbrandbekämpfung angewendeten Warmwasserbeize abspielen. Das zurzeit von Molisch (24) zu Frühtreibzwecken vorgeschlagene Warmbad wirkt, wie Boresch (6) zeigen konnte, durch Sauerstoffnot und dadurch bedingtes Einsetzen intramolekularer Atmungsvorgänge. Wenn wir auch auf Grund der neueren Untersuchungen von Vegis (41) damit rechnen müssen, daß bei der Anwendung heißer Bäder ganz oder teilweise auch direkte Hitzeschäden für den Frühtreiberfolg verantwortlich zu machen sind, kann es doch andererseits keinem Zweifel unterliegen, daß bei dem Lauwasserbad nach Molisch der von Boresch eingeschlagene Erklärungsweg der richtige ist. Denn einmal bleiben Lauwasserbäder wirkungslos, wenn die hier vorliegende Sauerstoffarmut durch geeignete Versuchsanstellung vermieden wird. Der Grund der Sauerstoffnot liegt in der verstärkten Atmung als Folge der Temperatursteigerung und in der gleichzeitigen Verschlechterung des Absorptionskoeffizienten des warmen Wassers für Sauerstoff: wird der Sauerstoffgehalt durch entsprechende Durchlüftung hoch genug gehalten, läßt sich eine frühtreibende Wirkung der Lauwasserbäder nicht mehr beobachten. Weiter hat Boresch nachgewiesen, daß diejenigen Stoffwechselprodukte, mit deren Bildung wir beim Einsetzen intramolekularer Atmungsvorgänge als Folge mangelnder Sauerstoffversorgung rechnen müssen, also vor allem Alkohol und Acetaldehyd, bei künstlicher Zuführung ebenfalls deutliche Frühtreibwirkungen auslösen.

Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß auch unter den Bedingungen der zur Flugbrandbekämpfung benutzten Heißwasserbeize, insbesondere während des Vorquellprozesses, Sauerstoffmangel im Innern der Körner eintreten muß; dadurch aber wird die Bildung anormaler Stoffwechselprodukte als Folge intramolekularer Atmungsvorgänge eingeleitet, über deren Vorhandensein bei Samen, die unter Sauerstoffabschluß keimen, wir bereits durch ältere Untersuchungen (Literaturzusammenstellung bei Kostytschew, 20) gut unterrichtet sind. Es besteht nun durchaus die Möglichkeit, daß gerade diese Stoffwechselprodukte, sei es allein, sei es in Zusammenwirken mit höheren Temperaturen überhaupt erst die Wirkung der Heißwasserbeize auf den im Innern des Kornes vorhandenen Krankheitskeim bedingen. Während die früheren Autoren dieses Moment ganz vernachlässigen, hat Hollrung 1921 (14, S. 108, 109) diese Zusammenhänge bereits klar erkannt: „Ich erblicke die Wirkung der Lauwasserbehandlung in der durch sie veranlaßten intrazellularen Atmung und enzymatischen Tätigkeit . . .“ „Genauer betrachtet ist die Lauwasserbehandlung nichts anderes als eine ‘innere Beize mit chemischen Stoffen‘, welche an Ort und Stelle durch physiologische Vorgänge erzeugt werden. Daß die intrazellulare Atmung unter den letzteren eine ausschlaggebende Rolle spielt, geht schon daraus hervor, daß Samen, welche in fließendem Wasser liegen, keine Beschädigungen ihrer Keimkraft erleiden und daß die Behandlung der Samen mit feuchtwarmer Luft ohne den erhofften Beizerfolg bleibt.“

Für die Richtigkeit dieser Auffassung spricht schon die Tatsache, daß Vorquellungstemperaturen von 25—30^0 für die Flugbrandbekämpfung wesentlich günstiger sind als tiefere, bei denen sich die Sauerstoffversorgung des im Quellwasser liegenden Kornes günstiger gestaltet. Also stellen nicht die stärkeren Quellungsvorgänge und die erhöhte Wasseraufnahme (Appel und Riehm 5), sondern die Sauerstoffverhältnisse den ausschlaggebenden Faktor dar. Das läßt sich im übrigen auch experimentell leicht beweisen, wie der folgende in Tabelle 3 wiedergegebene Versuch zeigt.

Der Versuch der Tabelle 3 ist in der Weise durchgeführt, daß flugbrandhaltiger Weizen 4 und 8 Stunden in Wasser von 40^0 bezw. 3 Stunden in Wasser von 45^0 gehalten wurde; hierbei wurde bei der Hälfte der Versuche ein feiner, vorher auf die gleiche Temperatur gebrachter Sauerstoffstrom durch die Versuchsgefäße und das im Wasser befindliche Saatgut geleitet, während die Vergleichsreihen nur mit Warmwasser behandelt wurden. Da Temperatur- und Quellungsverhältnisse völlig gleich sind, müssen wir die ungleich geringere Beizwirkung des Warmwasserbades bei gleichzeitiger Sauerstoffzufuhr tatsächlich auf die verbesserten Atmungsverhältnisse zurückführen; wir kommen so zu der Feststellung, daß den intramolekularen Atmungsvorgängen bei der Flugbrandbekämpfung durch

Tabelle 3.

Wirkung der Sauerstoffzufuhr während der Warmwasserbeize.

(Versuchsdurchführung siehe Text.)

Aussaat: je 3 × 180 Korn. 19. April 1932.

Behandlung	Beizwirkung		
	Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %
4 Stunden in Warmwasser 40°	344	23	6,3
4 Stunden „ „ 40°, aber mit O_2	307	28	8,4
8 Stunden in Warmwasser 40°	356	4	1,1
8 Stunden „ „ 40°, aber mit O_2	359	24	6,3
3 Stunden in Warmwasser 45°	356	0	0
3 Stunden „ „ 45°, aber mit O_2	294	18	5,8
Kontrolle unbehandelt	310	26	7,7
Kontrolle unbehandelt	367	30	7,6

Heißwasser eine entscheidende oder doch zum mindesten eine wesentliche Rolle zufällt.

Damit aber ist ein wichtiger Hinweis auf die Möglichkeit einer chemischen Bekämpfungsmethode des Flugbrandes gegeben. Sind die gemachten Voraussetzungen richtig, so muss es gelingen, die Bekämpfung des Flugbrandes durch künstliche Zufuhr von Stoffen, deren Bildung wir bei Sauerstoffabschluß und ausreichenden Temperaturen annehmen müssen, zu erleichtern; wir beschreiten damit den gleichen Weg, den Boresch (6) gegangen ist, als er die Frühtreibwirkung des Lauwasserbades durch diejenige des Alkohols und anderer Stoffe ersetzte.

Auf Grund dieser Erwägungen wurde die Möglichkeit der Flugbrandbekämpfung auf chemischem Wege einer erneuten Bearbeitung unterzogen und im Hinblick darauf, daß wir in dem Äthylalkohol eines der wichtigsten Produkte intramolekularer Atmung erblicken müssen, zunächst die Frage nach der Wirksamkeit und Brauchbarkeit von Alkoholbädern in den Vordergrund gestellt.

Versuche mit Äthylalkohol.

Da nicht vorauszusehen war, unter welchen Versuchsbedingungen eine Wirkung des Äthylalkohols auf den Flugbrandbefall hervortritt, mußten die Versuche unter möglichst weitgehender Abänderung der Faktoren: Alkoholkonzentration, Dauer der Einwirkung und Temperatur während der Beizung durchgeführt werden. In dem Versuch von Tabelle 4 sind Konzentrationen von 1—10 %, eine Beizdauer von 6 und 14 Stunden und Beiztemperaturen von 20, 30 und 40° zur Anwendung gekommen.

Das Hauptergebnis der umstehenden Versuchsreihen besteht in der Feststellung, daß ein Zusatz von Alkohol die Beizwirkung des

Tabelle 4.

Vergleichende Beizversuche mit Alkohollösungen bei verschiedenen Temperaturen und wechselnder Beizdauer.

Beiztemperatur	Beizflüssigkeit	Beizdauer: 6 Stunden			Beizdauer: 14 Stunden		
		Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %	Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %
ca. 20°	Wasser	539	200	27,1	507	189	27,1
	Alkohol 1 % . .	543	160	22,7	544	173	24,1
	„ 2 % . .	500	181	26,6	508	167	24,8
	„ 3 % . .	482	161	25,1	475	161	25,3
	„ 4 % . .	526	168	24,2	505	153	23,3
	„ 5 % . .	507	165	24,6	493	131	21,0
	„ 7 % . .	506	147	26,7	483	122	20,2
	„ 10 % . .	440	151	25,6	387	41	9,6
	Kontrolle unbehandelt	476	168	26,1	416	169	28,5
30°	Wasser	479	180	27,3	513	146	22,2
	Alkohol 1 % . .	521	162	23,7	510	132	20,6
	„ 2 % . .	519	142	21,5	584	116	16,6
	„ 3 % . .	530	147	21,7	514	98	16,0
	„ 4 % . .	553	149	21,2	—	—	—
	„ 5 % . .	505	161	24,2	482	51	9,6
	„ 7 % . .	442	83	15,8	—	—	—
	Kontrolle unbehandelt	416	170	29,0	565	156	21,6
40°	Wasser	562	58	9,4			
	Alkohol 1 % . .	541	21	3,7			
	„ 2 % . .	580	18	3,0			
	„ 3 % . .	524	7	1,3			
	„ 4 % . .	454	2	0,4			
	Kontrolle unbehandelt	498	165	24,9			

Dauerbades auf den Weizenflugbrand steigert: jedoch macht sich gleichzeitig eine starke Abhängigkeit der Versuchsergebnisse von Dauer und Temperatur der Beizbehandlung bemerkbar. Bei niedriger Beiztemperatur (20°) müssen zum Hervortreten der Alkoholwirkung stärkere Konzentrationen und eine längere Behandlungsdauer gewählt werden als bei Warmbädern höherer Temperatur. Auch bei 30° bewirkt der Alkoholzusatz noch keine ausreichende Herabsetzung des Brandbefalles; erst bei einer Beiztemperatur von 40° gelingt es, durch Alkohol die Beizwirkung so zu erhöhen, daß fast völlige Brandfreiheit erzielt wird, während die entsprechende Behandlung mit Wasser den Brandbefall von 24,9 % nur auf 9,4 % herabsetzt.

Aus dem in Tabelle 4 wiedergegebenen und aus weiteren Versuchen der gleichen Art geht hervor, daß es nicht möglich ist, durch Alkoholbeize allein, also **ohne** eine gewisse gleichzeitige Temperaturwirkung den Flugbrand erfolgreich zu bekämpfen. Dagegen ist es gelungen, diese Temperaturwirkung durch Alkoholzusatz zu den Bädern wirksamer zu gestalten und insbesondere die zur erfolgreichen Flugbrandbekämpfung erforderliche Einwirkungszeit des Warmbades abzukürzen.

Die Frage der zulässigen und optimalen Alkoholkonzentrationen sowie der anzuwendenden Einwirkungszeiten und Temperaturen machte die Durchführung weiterer umfangreicher Versuchsreihen notwendig, von denen zunächst in Tabelle 5 einige Versuche mit einer gleichmäßigen Alkoholkonzentration von 4 %, Temperaturen von 35° bzw. 40° und Einwirkungszeiten zwischen 4 und 24 bzw. 2 und 8 Stunden angeführt seien.

Tabelle 5.

Wirkung warmer Dauerbäder mit Zusatz von 4 % Äthylalkohol im Vergleich zu Warmwasserbädern gleicher Temperatur und Dauer.

(Zusammenstellung von zwei Versuchsreihen.)

Temperatur während der Beizung	Dauer der Beizung	Flugbrandbefall nach Behandlung mit Alkohol 4 %			Flugbrandbefall nach Behandlung mit Wasser			Flugbrandbefall der unbehandelten Kontrollpflanzen		
		Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	% Flugbrand	Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	% Flugbrand	Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	% Flugbrand
35°	4 Stunden	325	30	**8,4**	350	35	**9,1**	346	46	**11,7**
	6 „	646	82	**11,3**	605	75	**11,0**	542	93	**14,7**
	8 „	322	3	**0,9**	326	32	**8,9**	346	46	**11,7**
	12 „	263	0	**0**	325	20	**5,8**	346	46	**11,7**
	18 „	221	0	**0**	313	4	**1,3**	294	30	**9,3**
	24 „	183	0	**0**	342	0	**0**	294	30	**9,3**
40°	2 Stunden	333	24	**6,7**	313	33	**9,5**	311	43	**12,1**
	3 „	847	40	**4,5**	809	105	**11,5**	872	143	**14,1**
	4 „	330	16	**4,6**	378	32	**7,8**	311	43	**12,1**
	6 „	757	0	**0**	660	27	**3,9**	632	113	**15,2**
	6 „	313	0	**0**	363	27	**6,9**	344	35	**9,2**
	8 „	225	0	**0**	344	0	**0**	344	35	**9,2**

Danach läßt sich durch einen 4 %igen Alkoholzusatz die erforderliche Dauer des Warmbades auf etwa die Hälfte, bei 35° von 24 auf 8 bis 12, bei 40° von 8 auf etwa 5 Stunden herabdrücken.

In den Versuchen der folgenden Tabellen 6 und 7 sind für eine Beiztemperatur von 40° und verschiedene Behandlungszeiten die zur Flugbrandbekämpfung anzuwendenden Alkoholkonzentrationen ausgewertet.

Auf Grund der in den Tabellen 6 und 7 mitgeteilten Versuchsreihen liegt das Optimum des Alkoholzusatzes unter der Voraussetzung einer Beiztemperatur von 40° und einer Beizdauer von 5 bis 6 Stunden bei 3 bis 4 %; hier wird eine volle Brandfreiheit erreicht. Stärkere Konzentrationen oder Verlängerung der Behandlungsdauer führen wohl ebenfalls zur Unterdrückung des Flugbrandes, haben jedoch gleichzeitig nicht unbeträchtliche Beizschäden zur Folge.

Mit Temperaturen über 40° sind ausführliche Versuchsreihen noch nicht durchgeführt. Soweit sich aus einigen Vorversuchen schließen läßt, besteht die Möglichkeit, bei Anwendung von Temperaturen von 45 bis 50° durch gleichzeitigen Alkoholzusatz die Beizdauer im Vergleich zu den bei

Tabelle 6.

Wirkung von Warmwasserbädern mit Alkoholzusatz.

Beizung: Tauchverfahren, Beiztemperatur 40°.

Beizdauer: 3, 6, 10 Stunden.

Beizflüssigkeit	Flugbrandbefall bei einer Beizdauer von								
	3 Stunden			6 Stunden			10 Stunden		
	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %
Wasser	242	40	14,2	253	4	1,6	243	0	0
Alkohol 2 %	232	26	10,1	214	0	0	147	0	0
„ 3 %	221	11	4,7	163	0	0	101	0	0
„ 4 %	217	13	5,7	130	0	0	19	0	0
„ 5 %	163	3	1,8	27	0	0	0	0	0
„ 6 %	83	0	0	0	—	—	0	—	—
Kontrolle, unbehandelt .	264	54	17,0	236	52	18,1	236	52	18.1

Tabelle 7.

Wirkung von Warmwasserbädern mit Alkoholzusatz.

Beizung: Tauchverfahren, Beiztemperatur 40°.

Beizdauer: 4, 5, 6 Stunden.

Beizflüssigkeit	Flugbrandbefall bei einer Beizdauer von								
	4 Stunden			5 Stunden			6 Stunden		
	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %
Wasser	400	37	8,5	359	28	7,2	352	11	3.0
Alkohol 2 %	413	9	2,1	352	1	0,3	313	0	0
„ 3 %	400	1	0,3	311	0	0	296	0	0
„ 4 %	296	2	0,7	286	0	0	199	0	0
Kontrolle, unbehandelt .	340	34	9,1	342	35	9,3	354	34	8,8

40° noch innezuhaltenden Zeiten ganz wesentlich weiter zu verkürzen, was aus den früher dargelegten Gründen einen großen Fortschritt bedeuten würde. Die obigen Angaben über die Durchführung der Warmbadalkoholbeize bei 40° sollen daher hier ausdrücklich als vorläufige bezeichnet werden; auch bedarf die Frage der Beizschäden auf Saatgut verschiedener Jahrgänge und ungleicher Erntebedingungen noch der weiteren Prüfung.

Trotzdem läßt sich wohl heute schon sagen, daß der Warmbadalkoholbeize eine praktische Bedeutung nicht abgesprochen werden kann: auch größere Versuchsreihen zeigen die Möglichkeit, bei verhältnismäßig kurzer Einwirkung und nicht zu hohen Temperaturen des Warmwasserbades durch einen schwachen Alkoholzusatz aus schwer infiziertem Saatgut ganz oder fast ganz brandfreie Felder zu erzielen; der in der folgenden Tabelle 8 enthaltene Versuch zeigt in der unbehandelten Kontrollparzelle einen Flugbrandbefall von 25,1 %.

Tabelle 8.
Größerer Parzellenversuch mit alkoholgebeiztem Weizen.
Beizung: Tauchverfahren, 6 Stunden 40°.
Saat: je Versuch 30 qm. 21. April 1931.

Beizflüssigkeit	Beizwirkung: Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %
Wasser	2130	165	7,2
Alkohol 1 %	2178	152	**6,5**
„ 2 %	2505	44	**1,7**
„ 3 %	2277	10	**0,4**
„ 4 %	1479	0	**0**
Kontrolle, unbehandelt . . .	2022	678	25,1

Für die Praxis wird naturgemäß aus wirtschaftlichen Gründen reiner Äthylalkohol nicht in Frage kommen; jedoch leistet gewöhnlicher Brennspiritus dieselben Dienste. In einigen Versuchsreihen wirkte er sogar besser als reiner Alkohol. Tabelle 9 enthält eine der mit Brennspiritus durchgeführten Versuchsreihen.

Tabelle 9.
Wirkung warmer Dauerbäder von Brennspirituslösungen im Vergleich zu Warmwasserbädern gleicher Temperatur und Dauer.
Temperatur während der Beizung: 40°.
Beizdauer: 3 bzw. 6 Stunden.

Dauer der Beizung	Konzentration der Beizlösung (% Brennspiritus)	Flugbrand der gebeizten Parzellen: Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %	Flugbrand der unbehandelten Kontrollparzellen: Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %
3 Stunden	0 (Wasser)	809	105	11,5	872	143	14,1
„	3 % . . .	867	44	**4,8**			
„	4 % . . .	867	35	**3,9**			
„	5 % . . .	756	4	**0,5**			
6 Stunden	0 (Wasser)	660	27	3,9	632	113	15,2
„	2 % . . .	766	2	**0,3**			
„	3 % . . .	713	1	**0,1**			
„	4 % . . .	696	0	**0**			

Schließlich sei noch erwähnt, daß sich die zur Flugbrandbekämpfung verwendeten Alkohollösungen wiederholt verwenden lassen, ohne daß eine Beeinträchtigung der Beizwirkung eintritt. Die Versuche mit „Kettenbeize“ wurden in der Weise durchgeführt, daß die nach der Beizung verbleibende Flüssigkeit insgesamt 6 mal nacheinander in gleicher Weise gebraucht wurde; die Beiztemperatur betrug 40°, die Beizdauer je Versuch 6 Stunden, die Flüssigkeitsmenge zu Beginn des Versuches 200 l, am Ende des Versuches ca. 100 l, berechnet auf eine Saatgutmenge von 1 Ztr. je Beizgang.

Versuche mit anderen organischen C-Verbindungen.

Nachdem die im vorigen Abschnitt erwähnten Versuche mit Äthylalkohol insoweit ein befriedigendes Ergebnis gebracht hatten, als es gelungen war, durch Alkoholzusatz die Beizwirkung des Warmwasserbades wesentlich zu erhöhen und so Beizdauer und Beiztemperatur herabzusetzen, wurde eine ganze Reihe ähnlicher und sonstiger organischer C-Verbindungen in gleicher Weise auf ihre Wirksamkeit geprüft. Ich beschränke mich darauf, in der folgenden Tabelle 10 die Versuche mit fünf Stoffen wiederzugeben:

Aceton: $CH_3 \cdot CO \cdot CH_3$.
Cyclohexanon: $C_6H_{10}O$.
Dioxan: $(CH_2) \cdot O_2 \cdot (CH_2)_2$.
Isopropylalkohol: $(CH_3)_2 : CHOH$.
Methylalkohol: CH_3OH.

Die Beiztemperatur betrug in den hier mitgeteilten Versuchsreihen übereinstimmend 40°, die Beizdauer 3 und 6 Stunden. Die Feststellung der höchsten zulässigen Konzentration erfolgte auf Grund besonderer, hier nicht im einzelnen mitgeteilter Vorversuche; Erhöhung der Konzentrationen über die in der Tabelle 10 (S. 421) enthaltenen Maximalwerte bewirkt Schädigungen der Keimfähigkeit.

Die Versuche zeigen, daß nicht nur der weiter oben besprochene Äthylalkohol, sondern auch andere einfache organische C-Verbindungen zur Flugbrandbekämpfung brauchbar sind; denn die Flugbrandprozente sinken mit steigenden Gaben aller vorstehend erwähnten fünf Stoffe. Es ist nun sehr schwer, einen einwandfreien Vergleich der Wirksamkeit dieser Stoffe durchzuführen, da die Höhe der brauchbaren Konzentration verschieden liegt. Aceton, Methylalkohol, Isopropylalkohol und Dioxan müssen etwa in gleicher Menge angewendet werden wie Äthylalkohol; weitere hier nicht im einzelnen mitgeteilte Versuchsreihen deuten auf eine besonders prägnante Wirkung des Isopropylalkohols hin. Cyclohexanon unterscheidet sich von den anderen Präparaten dadurch, daß wesentlich geringere Konzentrationen gewählt werden müssen.

Grundsätzlich wichtig erscheint die Feststellung, daß außer Äthylalkohol eine ganze Anzahl anderer organischer Verbindungen auf den Flugbrand einwirken. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß mit den vorstehend erwähnten Verbindungen die Zahl der wirksamen Stoffe in keiner Weise erschöpft ist. Allerdings scheinen im einzelnen große Unterschiede vorhanden zu sein, soweit sich aus weiteren, hier nicht im einzelnen wiedergegebenen Versuchen mit anderen Verbindungen sagen läßt.

Außer den in Tabelle 10 angeführten Stoffen sind Versuche mit den auf S. 422 genannten Substanzen durchgeführt.

Tabelle 10.

Prüfung verschiedener organischer C-Verbindungen auf Wirksamkeit gegen Weizenflugbrand.

Beizverfahren: Warmwasserdauerbad von 40°, 3 und 6 Stunden.

Dauer der Beizung Std.	Präparat	Konzentration %	Flugbrandbefall der gebeizten Parzellen: gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %	Flugbrandbefall der unbehandelten Kontrollparzellen: gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %
3	Wasser	—	804	124	13,4	790	110	12,2
3	Aceton	4	784	43	5,2			
3	"	6	744	22	2,9			
3	"	8	646	2	0,3			
6	Wasser	—	852	53	5,9	863	118	12,0
6	Aceton	3	822	1	0,1			
6	"	5	783	0	0			
6	"	7	641	0	0			
3	Wasser	—	804	124	13,4	790	110	12,2
3	Cyclohexanon	0,1	802	88	9,9			
3	"	0,3	791	88	10,0			
3	"	0,6	769	48	5,9			
3	"	0,9	723	11	1,5			
3	"	1,2	670	1	0,1			
6	Wasser	—	852	53	5,9	863	118	12,0
6	Cyclohexanon	0,1	791	18	2,2			
6	"	0,2	820	16	1,9			
6	"	0,4	800	6	0,7			
6	"	0,6	771	0	0			
6	"	0,8	666	0	0			
3	Wasser	—	804	124	13,4	790	110	12,2
3	Dioxan	3	721	90	11,1			
3	"	4	657	58	8,1			
3	"	5	750	39	4,9			
6	Wasser	—	852	53	5,9	863	118	12,0
6	Dioxan	2	862	11	1,3			
6	"	3	789	1	0,1			
6	"	4	765	0	0			
3	Wasser	—	698	112	13,8	716	116	13,9
3	Isopropylalkohol	4	810	35	4,1			
3	"	6	636	0	0			
6	Wasser	—	715	26	3,5	803	118	12,8
6	Isopropylalkohol	3	812	0	0			
6	"	4,5	695	0	0			
3	Wasser		809	105	11,5	872	143	14,1
3	Methylalkohol	3	849	97	10,2			
3	"	4	788	75	8,7			
3	"	5	849	73	7,9			
6	Wasser	—	715	26	3,5	803	118	12,8
6	Methylalkohol	2	815	6	0,7			
6	"	3	800	3	0,4			
6	"	4	783	2	0,3			

Butylenglykol: $C_4H_{10}O_2$.
Diacetonalkohol: $CH_3 \cdot CO \cdot CH_2 \cdot C : (CH_3)_2OH$.
Glykol: $C_2H_6O_2$.
Glykol-mono-acetat: $CH_2OH \cdot CH_2O \cdot COCH_3$.
Glykol-monomethyläther: $CH_3 \cdot OCH_2 \cdot CH_2OH$.
Acetat des Glykol-monomethyläthers: $CH_3O \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot OCOCH_3$.
Glykol-monäthyläther: $C_2H_5 \cdot OCH_2 \cdot CH_2OH$.
Glykol-monobutyläther: $C_4H_9 \cdot OCH_2 \cdot CH_2OH$.

Von diesen Stoffen zeigten sich in 6-stündiger Tauchbeize bei 40° deutlich wirksam: Glykol (in 2%), Glykol-monäthyläther (in 1 und 2%), Glykol-monobutyläther (in 1%). Zweifelhafte Wirkung oder Wirkungslosigkeit ergab sich bei Butylenglykol (in 2% und weniger), Glykol-mono-acetat (in 0,1 und 0,3%), Glykol-monomethyläther (in 1 und 2%), Acetat des Glykol-monomethyläthers (in 0,1 und 0,3%), Diacetonalkohol (in 0,1—1%). Hierbei sind Versuche mit höheren Konzentrationen, die gleichzeitig schwere Schädigungserscheinungen des Saatgutes bedingten, unberücksichtigt geblieben.

5. Die Möglichkeit der Flugbrandbekämpfung durch „Warmbenetzungsbeize".

Die im vorigen Abschnitt zusammengestellten Versuche haben die Möglichkeit gezeigt, durch Anwendung chemischer Stoffe mit geringeren Beiztemperaturen auszukommen und die Beizdauer abzukürzen. Beides ist für die Praxis der Flugbrandbekämpfung gleich wichtig; die Verwendung weniger hoher Temperaturen, die mit Rücksicht auf ihre größere Gefahrlosigkeit nicht mit derselben peinlichen Genauigkeit innegehalten zu werden brauchen wie die an der kritischen Grenze liegenden Temperaturen von 50—52°, bedeutet ebenso einen Vorteil wie die Abkürzung der Beizdauer, welche nicht nur ein schnelleres Arbeiten gestattet, sondern im Hinblick auf die geringere Wasseraufnahme des Saatgutes auch ein leichteres Rücktrocknen desselben ermöglicht. Allerdings ist die absolute untere Grenze der Einwirkungszeit, also die minimale Beizdauer bei gleichzeitiger Anwendung von höheren Temperaturen und chemischen Stoffen bisher noch nicht experimentell festgestellt, weil ausreichende Versuche mit Temperaturen von über 40° nicht durchgeführt sind. Immerhin dürfen wir auf Grund der Vorversuche annehmen, daß wir die bei Verwendung höherer Temperaturen an sich schon geringere Beizdauer noch weiter abkürzen können, wenn wir gleichzeitig geeignete chemische Stoffe zur Einwirkung bringen.

Wenn es möglich ist, auch bei wesentlich kürzerer Beizdauer und dementsprechend verringerter Wasseraufnahme vollen Beizerfolg zu erzielen, kann es nicht als ganz ausgeschlossen gelten, zu einem brauchbaren Beizverfahren zu kommen, bei dem der Wasserzusatz so weit herabgesetzt ist, daß wir von der sonst üblichen Tauchbeize zur Benetzungsbeize

übergehen. Ich muß hier allerdings gestehen, daß ich diesen Schritt im Hinblick auf die bisherigen Erfahrungen und Methoden der Flugbrandbekämpfung nur sehr zögernd gegangen bin, und daß ich mich zu den entsprechenden Versuchen erst entschlossen habe, als die im vorigen Abschnitt mitgeteilten Versuchsergebnisse die Möglichkeit gezeigt hatten, die Warmwasserwirkung durch Zusatz chemischer Stoffe zu steigern und insbesondere die bei einer bestimmten Temperatur sonst erforderliche Einwirkungszeit abzukürzen. Dieses ursprüngliche und im Hinblick auf die bisher herrschenden Vorstellungen und Vorurteile durchaus verständliche Mißtrauen gegen die Benetzungsbeize hat mich auch gehindert, die Versuche von vornherein in einem so großen Umfange durchzuführen, daß alle Kombinationsmöglichkeiten von Temperatur, Beizdauer, Aufwandmengen an Beizflüssigkeit und Zusatz chemischer Stoffe ausgeprobt sind. Immerhin liegt im folgenden so viel Versuchsmaterial vor, daß auch die Frage der Benetzungsbeize als grundsätzlich geklärt angesprochen werden kann.

Ältere Literaturangaben über die Brauchbarkeit des Benetzungsverfahrens zur Flugbrandbekämpfung liegen meines Wissens nicht vor. Die Behandlung des Saatgutes mit trockener Hitze ist etwas ganz anderes und hat sich im übrigen, wie von verschiedenen Seiten berichtet wird, stets als erfolglos erwiesen (Störmer 32, Appel und Riehm 5, Schander 27, 28, u. a.). Das von Appel und Riehm (5 u. a. O.) vorgeschlagene Verfahren der Vorquellung mit nachträglicher Heißluftbehandlung hat nach seiner ganzen Art und Wirkungsweise ebenfalls nichts mit dem im folgenden behandelten Benetzungsverfahren gemeinsam.

Bei der Heißluftbekämpfung nach Appel und Riehm (5; vgl. auch H. Lang 21, Gisevius und Böhmer 9, Sperling 30 u. a.) wird das Saatgut zunächst 4 Stunden bei Temperaturen von 25—30° vorgequollen und dann in einen trockenen, dauernd erneuerten Luftstrom gebracht, der es auf die vorschriftsmäßige Temperatur von etwa 50° erhitzt und dabei gleichzeitig bereits schwach trocknet. Bei der im folgenden vorgeschlagenen Benetzungsbeize wird das Getreide mit einer zwischen 5 und 10 Litern je Zentner Saatgut liegenden Flüssigkeitsmenge durchgearbeitet; es verbleibt für die Dauer der gesamten Behandlung in einem geschlossenen Behälter, so daß die Beizflüssigkeit während der ganzen Beizdauer in unveränderter Menge zur Einwirkung kommt und sich das Saatgut in wasserdampfgesättigter Luft befindet.

Es ist soeben besonders betont, daß die Beizung in einem geschlossenen Behälter, also ohne die von Appel und Riehm sowie von anderen Autoren vorgenommene gleichzeitige Lufterneuerung durchgeführt wird. Die Innehaltung konstanter Feuchtigkeitsverhältnisse während der gesamten Beizdauer ist naturgemäß nur auf dem hier vorgeschlagenen Wege möglich; außerdem aber dürfte die Benutzung eines

geschlossenen Beizbehälters und die Vermeidung von Luftzutritt noch in anderer Weise von entscheidender Bedeutung sein. Wir hatten weiter oben (S. 414) gesehen, daß die Wirkung der Warmwasserbeize dadurch bedingt oder doch zum mindesten mitbestimmt wird, daß sich das Saatgut unter Sauerstoffarmut befindet; wird durch die Beizflüssigkeit Sauerstoff geleitet, ist es nicht möglich, durch Warmwasserbehandlung eine ausreichende Wirkung zu erzielen. Die Bedingung des Sauerstoffmangels ist bei der Benetzungsbeize naturgemäß nur so zu erfüllen, daß ein geschlossener Behälter benutzt wird, der den sonst unvermeidlichen und von Appel und Riehm (5) absichtlich durchgeführten Luftwechsel während der Beizdauer ausschließt. Im geschlossenen Behälter wird der vorhandene Sauerstoff durch die bei höheren Temperaturen besonders starke Atmung schnell verbraucht, so daß für das Saatgut ähnliche Bedingungen geschaffen werden, wie sie während des üblichen Warmwasserbades bezw. während des Vorquellens des Saatgutes vorliegen.

Aus den vorstehenden Erwägungen heraus wurde die bereits weiter oben (S. 411) beschriebene Methodik für die Bekämpfung des Weizenflugbrandes im Benetzungsverfahren gewählt: Das Saatgut wird in geschlossenen Flaschen mit den entsprechenden Flüssigkeitsmengen unter ausreichendem Schütteln benetzt und dann für die Beizdauer unter bestimmten höheren Temperaturen gehalten. Als Benetzungsmengen sind 5, 6, 7$^1/_2$ und 10 Liter zur Anwendung gekommen.

Die in dieser Weise bei Temperaturen von 35°, 40° und 45° und verschiedener Beizdauer mit Wasser als Benetzungsflüssigkeit durchgeführten Versuche sind in Tabelle 11 zusammengestellt.

Eine Wirkung der Benetzungsbeize ist bei 35° und 40° wohl nachweisbar, jedoch meist nur schwach und in jedem Fall unzureichend; wird die Beiztemperatur jedoch auf 45° gesteigert, so gelingt es, den Flugbrand fast ganz zu beseitigen. Wenn die hier mitgeteilten Versuche auch noch kein abschließendes Urteil über die anzuwendenden Benetzungsmengen, die Behandlungsdauer und die optimalen Beiztemperaturen gestatten, so ergibt sich doch mit ausreichender Sicherheit die praktisch überaus wichtige Tatsache, daß es möglich ist, den Flugbrand in geschlossenen Beizbehältern mit dem Benetzungsverfahren erfolgreich zu bekämpfen.

Die weiteren Versuche dienten der Beantwortung der Frage, ob und in welchem Umfange die gleichzeitige Anwendung chemischer Stoffe das Benetzungsverfahren noch weiter zu verbessern gestattet. Hierbei wurde naturgemäß auf diejenigen Stoffe zurückgegriffen, die sich im Warmwassertauchverfahren bereits als wirksam erwiesen hatten. Von den Versuchen mit Äthylalkohol sind im folgenden nur die Versuchsreihen mit Brennspiritus berücksichtigt, da nur dieser

Tabelle 11.

Flugbrandbekämpfungsversuche im Benetzungsverfahren.

Beizflüssigkeit: Wasser.

(Zusammenstellung verschiedener Versuchsreihen.)

Einzelheiten der Versuchsdurchführung siehe Text.

Beiztemperatur	Wasser je Zentner Weizen	Beizdauer	Flugbrand der gebeizten Parzellen			Flugbrand der unbehandelten Kontrollparzellen		
	Liter	Stunden	Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %	Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %
35°	7½	14	685	89	**11,5**	692	122	**15,0**
	7½	14	656	101	**13,3**	604	102	**14,4**
	7½	14	780	46	**5,6**	728	98	**11,8**
35°	10	14	794	81	**9,3**	718	111	**13,4**
	10	14	813	101	**11,1**	720	171	**19,2**
	10	14	832	90	**9,8**	838	117	**12,2**
40°	5	8	714	112	**13,6**	681	133	**16,3**
	5	8	781	96	**10,9**	812	95	**10,5**
	5	8	714	110	**13,4**	659	93	**12,4**
40°	6	4	608	61	**9,1**	} 454	59	**11,5**
	6	6	657	68	**9,4**			
	6	8	577	58	**9,1**	} 486	54	**10,0**
	6	10	586	44	**7,0**			
40°	7½	8	745	82	**9,9**	729	128	**14,9**
	7½	8	721	78	**9,8**	706	146	**17,1**
	7½	8	714	63	**8,1**	758	109	**12,6**
40°	10	8	784	41	**5,0**	731	88	**10,8**
	10	8	802	113	**12,4**	832	123	**12,9**
	10	8	638	53	**7,7**	635	121	**16,0**
45°	7½	6	737	7	**0,9**	767	125	**14,0**
	7½	6	796	10	**1,2**	711	107	**13,1**
	7½	6	688	5	**0,7**	647	120	**15,7**

praktische Bedeutung hat und da wesentliche Unterschiede zwischen reinem Äthylalkohol und Brennspiritus nicht bestehen.

Die Versuche sind gruppenweise nach Beiztemperaturen und Aufwandmengen an Beizflüssigkeit geordnet und in den folgenden Tabellen 12—14 wiedergegeben. Die Wahl der Konzentration der Beizmittel ist so vorgenommen, daß die jeweils höchste Konzentration möglichst die Dosis toxica erreicht oder schwach überschreitet.

Bei einer Beiztemperatur von 35° und einer Beizdauer von 14 Stunden (Tabelle 12) läßt sich durch bloße Behandlung mit Wasser als Benetzungsflüssigkeit höchstens eine sehr unvollständige Beizwirkung erzielen; diese wird durch Isopropylalkohol und Äthylalkohol stark, durch die anderen geprüften Substanzen weniger stark oder kaum gesteigert. Nur bei den beiden erstgenannten Stoffen kommt es zu einer praktisch genügenden Beseitigung des Befalles, vor allem, wenn Aufwandmengen von 10 l Flüssigkeit je Zentner gebraucht werden. Auch bei den anderen

Tabelle 12.

Benetzungsbeize mit Lösungen chemischer Stoffe.

Versuche bei 35° und 14 stündiger Beizdauer.

Beizflüssigkeit	Konzentration %	Aufwandmenge je Zentner 7½ Liter, Flugbrandbefall: Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %	10 Liter, Flugbrandbefall: Gesunde Pflanzen	Kranke Pflanzen	Flugbrand %
Wasser		685	89	11,5	794	81	9,3
Brennspiritus . . .	3	759	20	2,6	746	78	9,5
" . . .	4	731	17	2,4	787	24	3,0
" . . .	5	687	27	3,8	743	1	0,1
Kontrolle unbehandelt		692	122	15,0	718	111	13,4
Wasser		780	46	5,6	832	90	9,8
Aceton	4	734	125	14,6	814	55	6,3
"	6	732	105	12,5	704	38	5,1
"	8	668	39	5,5	625	19	3,0
Kontrolle unbehandelt		728	98	11,8	838	117	12,2
Wasser		780	46	5,6	832	90	9,8
Cyclohexanon . . .	0,25	709	68	8,8	826	74	8,2
" . . .	0,5	793	48	5,7	803	60	7,0
" . . .	0,75	718	65	8,3	844	50	5,6
" . . .	1,0	731	20	2,7	823	52	5,9
" . . .	1,25	728	73	9,1	767	39	4,8
Kontrolle unbehandelt		728	98	11,8	838	117	12,2
Wasser		780	46	5,6	832	90	9,8
Dioxan	2	805	31	3,7	754	126	14,3
"	4	707	67	8,7	676	58	7,9
"	6	694	17	2,4	717	29	3,9
Kontrolle unbehandelt		728	98	11,8	838	117	12,2
Wasser		656	101	13,3	813	101	11,1
Isopropylalkohol . .	4	630	22	3,4	803	26	3,1
" . .	6	678	10	1,5	717	2	0,3
" . .	8	437	1	0,2	293	0	0
Kontrolle unbehandelt		604	102	14,4	720	171	19,2
Wasser		656	101	13,3	813	101	11.1
Methylalkohol . . .	3	757	73	8,8	733	66	8,3
" . . .	4	642	87	11,9	733	48	6,1
" . . .	5	610	71	10,4	800	64	7,4
Kontrolle unbehandelt		604	102	14,4	720	171	19,2
Wasser		656	101	13,3	813	101	11,1
Glykol-monäthyläther	1,0	560	52	8,5	810	77	8,7
"	1,5	623	93	13,0	723	73	9,2
"	2,0	808	91	10,1	690	52	7,0
"	3,0	764	87	10,2	714	42	5,6
Kontrolle unbehandelt		604	102	14,4	720	171	19,2

Tabelle 13.

Benetzungsbeize mit Lösungen chemischer Stoffe.

Versuche bei 40° und 8stündiger Beizdauer.

Beizflüssigkeit	Konzentration %	Aufwandmenge je Zentner								
		5 Liter			7 1/2 Liter			10 Liter		
		Flugbrandbefall			Flugbrandbefall			Flugbrandbefall		
		gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %	gesunde Pflanzen	kranke Pflanzen	Flugbrand %
Wasser		714	112	13,6	745	82	9,9	784	41	5,0
Brennspiritus . . .	3	835	119	12,5	746	38	4,8	900	13	1,4
" . . .	4	806	76	8,6	714	13	1,8	870	27	3,0
" . . .	5	644	104	13,9	798	3	0,4	818	23	2,7
Kontrolle, unbehandelt		681	133	16,3	729	128	14,9	731	88	10,8
Wasser		714	110	13,4	714	63	8,1	638	53	7,7
Aceton	4	720	82	10,2	751	56	6,9	681	15	2,2
"	6	647	81	11,1	762	19	2,4	722	60	7,7
"	8	740	90	10,8	676	31	4,4	660	15	2,2
Kontrolle, unbehandelt		659	93	12,4	758	109	12,6	635	121	16,0
Wasser		714	110	13,4	714	63	8,1	638	53	7,7
Cyclohexanon . . .	0,25	743	96	11,4	708	70	9,0	625	29	4,4
" . . .	0,5	748	89	10,6	745	66	8,1	604	45	6,9
" . . .	0,75	717	74	9,3	730	59	7,5	630	11	1,7
" . . .	1,0	760	84	10,0	666	38	5,4	707	7	1,0
" . . .	1,25	753	89	10,6	638	9	1,1	653	0	0
Kontrolle, unbehandelt		659	93	12,4	758	109	12,6	635	121	16,0
Wasser		714	110	13,4	714	63	8,1	638	53	7,7
Dioxan	2	792	95	10,7	784	63	7,4	739	45	5,7
"	4	686	105	13,3	672	67	9,1	709	6	0,8
"	6	666	76	10,2	666	12	1,8	613	8	1,3
Kontrolle, unbehandelt		659	93	12,4	758	109	12,6	635	121	16,0
Wasser		781	96	10,9	721	78	9,8	802	113	12,4
Isopropylalkohol . . .	4	765	76	9,0	648	9	1,4	757	13	1,7
" . . .	6	752	32	4,1	708	0	0	689	3	0,4
" . . .	8	757	5	0,7	127	0	0	492	1	0,2
Kontrolle, unbehandelt		812	95	10,5	706	146	17,1	832	123	12,9
Wasser		781	96	10,9	721	78	9,8	802	113	12,4
Methylalkohol . . .	3	772	104	11,9	828	51	5,8	918	70	7,1
" . . .	4	798	84	9,5	707	65	8,4	835	53	6,0
" . . .	5	791	111	12,3	757	40	5,0	831	55	6,2
Kontrolle, unbehandelt		812	95	10,5	706	146	17,1	832	123	12,9
Wasser		781	96	10,9	721	78	9,8	802	113	12,4
Glykol-monäthyläther .	1,0	829	102	11,0	716	83	10,4	796	52	6,1
" .	1,5	769	99	11,4	708	63	8,2	650	46	6,6
" .	2,0	743	95	11,3	671	44	6,2	765	41	5,1
" .	3,0	692	121	14,9	741	59	7,4	699	56	7,4
Kontrolle, unbehandelt		812	95	10,5	706	146	17,1	832	123	12,9

Substanzen zeigt sich eine deutliche Verbesserung der Beizwirkung mit Erhöhung der Aufwandmengen von $7^1/_2$ l auf 10 l je Zentner.

Besonders umfangreich und vollständig sind die bei 40° und achtstündiger Beizdauer durchgeführten Versuche (Tabelle 13). Der günstige Einfluß erhöhter Aufwandmengen an Beizflüssigkeit tritt auch hier in-

Tabelle 14.

Benetzungsbeize mit Lösungen chemischer Stoffe.

Versuche mit 45° und 6stündiger Beizdauer.

Aufwandmenge je Zentner: 7 1/2 Liter.

Beizflüssigkeit	Konzentration %	Flugbrandbefall Gesunde Pflanzen	Flugbrandbefall Kranke Pflanzen	Flugbrandbefall % Flugbrand	Beizflüssigkeit	Konzentration %	Flugbrandbefall Gesunde Pflanzen	Flugbrandbefall Kranke Pflanzen	Flugbrandbefall % Flugbrand
Wasser		737	7	0,9	Wasser . . .		796	10	1,2
Brennspiritus . .	3	826	9	1,1	Isopropylalkohol	4	748	0	0
„ .	4	807	0	0	„	6	678	0	0
„ .	5	678	0	0	„	8	tot	tot	—
Kontrolle unbeh.		767	125	14,0	Kontrolle unbeh.		711	107	13,1
Wasser		688	5	0,7	Wasser . . .		796	10	1,2
Aceton	4	610	1	0,2	Methylalkohol .	3	730	10	1,4
„	6	675	0	0	„ .	4	735	0	0
„	8	649	0	0	„ .	5	720	0	0
Kontrolle unbeh.		647	120	15,7	Kontrolle unbeh.		711	107	13,1
Wasser		688	5	0,7	Wasser . . .		796	10	1,2
Cyclohexanon .	0,25	650	3	0,5	Glykol-monäthyl-	1	857	11	1,3
„ .	0,5	623	1	0,2	äther	1,5	714	4	0,6
„ .	0,75	839	0	0	„	2	756	0	0
„ .	1,0	612	2	0,3	„	3	679	0	0
„ .	1,25	614	0	0	Kontrolle unbeh.		711	107	13,1
Kontrolle unbeh.		647	120	15,7					
Wasser		688	5	0,7					
Dioxan	2	730	2	0,3					
„	4	696	0	0					
„	6	639	0	0					
Kontrolle unbeh.		647	120	15,7					

soweit klar hervor, als die Beizwirkung bei 5 l je Zentner stets wesentlich geringer ist als bei 7 1/2 und 10 l, die unter sich nur schwache oder auch gar keine Unterschiede zeigen. Über 7 1/2 l Flüssigkeit je Zentner braucht also bei dieser Temperatur und Beizdauer nicht hinausgegangen zu werden. Isopropylalkohol steht auch hier wieder an erster Stelle; bei ihm gelingt es schon bei einer Aufwandmenge von 5 l, den Flugbrandbefall fast ganz zu beseitigen. An zweiter Stelle stehen Brennspiritus, Aceton und Cyclohexanon, deutlich weniger wirksam sind Methylalkohol und Glykol-monäthyläther.

Mit 45° und sechsstündiger Beizdauer sind leider nur Versuche mit einer Aufwandmenge von 7 1/2 l je Zentner durchgeführt; hier sind alle geprüften Substanzen ausreichend, um den geringen, bei Behandlung mit Wasser noch vorhandenen Rest von Flugbrand völlig zu beseitigen.

Um die Wirkung der verschiedenen Substanzen bei den einzelnen Behandlungsarten zu vergleichen und die Unterschiede übersichtlich hervortreten zu lassen, ist in der Tabelle 15 die Steigerung der Beizwirkung

durch Zusatz organischer Stoffe im Vergleich zur reinen Wasserwirkung nochmals dargestellt, wobei die in den Tabellen 12 bis 14 wiedergegebenen Versuchsergebnisse zugrunde gelegt sind. Auf die verschiedenen Konzentrationen ist hierbei keine Rücksicht genommen, vielmehr wurde die jeweils höchste Steigerung der Wirkung als Maßstab benutzt.

Tabelle 15.

Steigerung der Beizwirkung warmen Wassers durch Zusatz organischer Stoffe.

Bei Temperaturen von 35° und 14 Stunden Beizdauer
" " " 40° " 8 " "
" " " 45° " 6 " "
(Versuchsunterlagen siehe Tabellen 12 bis 14.)

Es bedeutet:
— nicht geprüft
0 keine Steigerung der Beizwirkung im Vergleich zu Wasser
+ Spur " " " " " " "
++ schwache " " " " " " "
+++ deutliche " " " " " " "
++++ volle oder fast volle Beizwirkung.

Präparat	Beizverfahren: 35° 14 Stunden Steigerung der Beizwirkung bei Aufwandmengen (je Zentner) von			Beizverfahren: 40° 8 Stunden Steigerung der Beizwirkung bei Aufwandmengen (je Zentner) von			Beizverfahren: 45°, 6 Stunden Steigerung der Beizwirkung bei Aufwandmengen (je Zentner) von		
	5 l	7½ l	10 l	5 l	7½ l	10 l	5 l	7½ l	10 l
Brennspiritus	—	+++	++++	0	++++	+++	—	++++	—
Aceton	—	0	++	+	++	+++	—	++++	—
Cyclohexanon	—	0	++	+	+++	++++	—	++++	—
Dioxan	—	+	++	+	+++	+++	—	++++	—
Isopropylalkohol	—	++++	++++	+++	++++	++++	—	++++	—
Methylalkohol	—	0	+	0	++	++	—	++++	—
Glykol-monäthyläther	—	0	++	0	++	++	—	++++	—

Auf Grund der in Tabelle 15 gegebenen Darstellung und der in den Tabellen 12 bis 14 enthaltenen Versuche können wir zusammenfassend folgendes sagen: Durch Zusatz chemischer Stoffe gelingt es, die bei 35° und 40° nur schwache, bei 45° immer noch nicht ganz ausreichende Wirkung reinen Wassers als Beizflüssigkeit in vielen Fällen so weit zu steigern, daß völlige Brandfreiheit durch das Benetzungsverfahren erzielt wird. Die geprüften Stoffe verhalten sich dabei deutlich verschieden. Am wirksamsten ist der Isopropylalkohol, an zweiter Stelle stehen Brennspiritus, Aceton, Cyclohexanon und Dioxan; nur bei sechsstündiger Beizung mit 45° sind auch Methylalkohol und Glykol-monäthyläther imstande, brandfreien Bestand zu erzielen.

Die Frage nach dem Zusammenwirken von Temperatur, Einwirkungszeit, Aufwandmenge an Beizflüssigkeit und Konzentration der wirksamen Stoffe ist dahin zu beantworten, daß sich alle eben genannten Faktoren

in ihrer Wirkung gegenseitig bedingen, und daß ein Minus eines Faktors innerhalb weiter Grenzen durch entsprechende Steigerung eines oder mehrerer anderer Faktoren ausgeglichen werden kann. Es ist also möglich, mit ganz verschiedenen Kombinationen von Temperatur, Beizdauer, Flüssigkeitsmenge und Konzentration die Bekämpfung des Flugbrandes erfolgreich durchzuführen.

Für die Praxis kommt aus naheliegenden Gründen nur ein Benetzungsverfahren in Frage, das bei möglichst kurzer Beizdauer und unter Verwendung möglichst geringer Flüssigkeitsmengen eine sichere Bekämpfung gewährleistet. Da nach den im vorstehenden dargelegten Ergebnissen bei weniger hohen Temperaturen (35°) längere Einwirkungszeiten und höhere Aufwandmengen an Flüssigkeit zur Erzielung der gleichen Beizwirkung erforderlich sind als bei höheren Temperaturen, müssen wir also mit der Temperatur möglichst heraufgehen und durch gleichzeitigen Zusatz von wirksamen chemischen Stoffen eine weitere Herabsetzung der Aufwandmengen sowie Verkürzung der Beizdauer anzustreben suchen. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß dieser aussichtsreiche Weg in den hier mitgeteilten Versuchen noch nicht bis zum Ende durchgeführt ist; denn als höchste Temperatur sind nur 45°, als Aufwandmenge hierbei $7^1/_2$ l je Ztr. und als Beizdauer 6 Stunden gewählt. Schon bei Verwendung reinen Wassers genügt diese Behandlung, um den Flugbrandbefall bis auf einen kleinen Rest zu beseitigen; wir nutzen also die günstige Wirkung der chemischen Stoffe nur höchst unvollständig aus. Wenn wir aus den Versuchen bei 40° auf die Beizwirkung von 45° rückschließen dürfen, können wir annehmen, daß sich durch den Gebrauch chemischer Beizmittel die Behandlungsdauer verkürzen und die Aufwandmenge an Beizflüssigkeit herabsetzen läßt; weitere Verbesserungen sind dadurch zu erwarten, daß wir mit der Temperatur noch weiter heraufgehen, was innerhalb gewisser Grenzen bestimmt noch möglich ist.

Es besteht also begründete Aussicht, durch Wahl einer höheren Beiztemperatur und gleichzeitigen Zusatz geeigneter chemischer Stoffe zur Beizflüssigkeit zu einem Benetzungsverfahren zu kommen, das bei geringen Aufwandmengen und wenigstündiger Einwirkung eine sichere Bekämpfung des Flugbrandes gestattet und die bisherigen umständlichen Verfahren überflüssig macht.

6. Hauptinhalt.

1. Durch künstliche Sauerstoffzufuhr während der Warmwasserbehandlung des Saatgutes wird die Wirkung der Warmwasserbeize auf den Flugbrand weitgehend aufgehoben; der Beizerfolg des Warmwasserbades hängt also davon ab, daß während der Behandlung Sauerstoffmangel ein-

tritt. Damit sind die Voraussetzungen für intramolekulare Atmungsvorgänge und die Bildung von Alkohol und anderen Spaltungsprodukten im Innern der behandelten Pflanzenteile gegeben. In ähnlicher Weise wie bei der Verwendung von Warmwasserbädern zu Frühtreibzwecken müssen wir daher in Übereinstimmung mit Hollrung auch bei der zur Flugbrandbekämpfung üblichen Warmwasserbeize des Saatgutes damit rechnen, daß der Erfolg der Behandlung ganz oder zum Teil auf der Wirkung dieser während der Beizung entstehenden Stoffe beruht.

2. Unter der Voraussetzung der Richtigkeit dieser Annahme wird der Versuch gemacht, die bisherige Methodik der Flugbrandbekämpfung dadurch zu verbessern, daß der Beizflüssigkeit geringe Alkoholmengen zugesetzt werden. Zur Verwendung kamen Dauerbäder verschiedener Einwirkungszeit und Temperatur, nachdem Vorversuche die Angaben älterer Autoren über die Brauchbarkeit solcher Dauerbäder zur Flugbrandbekämpfung bestätigt hatten.

3. Die Versuche mit Alkoholzusatz zur Beizflüssigkeit zeigen eine ganz wesentliche Steigerung der Beizwirkung; durch Verwendung 2—5 % iger Alkohollösungen ist es möglich, die erforderliche Einwirkungszeit stark abzukürzen und mit sonst nicht ausreichenden Temperaturen volle Beizwirkung zu erzielen. Ohne Temperaturerhöhung der Bäder kommen wir jedoch auch bei Alkoholzusatz zur Beizflüssigkeit nicht aus. Brennspiritus gibt etwa gleiche Wirkungssteigerung wie reiner Äthylalkohol. Bei wiederholter Verwendung der gleichen Beizlösung macht sich kein Nachlassen der Wirksamkeit der gebrauchten Lösungen bemerkbar.

4. Außer Äthylalkohol steigern auch andere einfache organische Kohlenstoffverbindungen die Beizwirkung der Warmwasserbäder. Besonders deutlich wirkt der Isopropylalkohol; sonstige Substanzen, die den Beizerfolg in gleicher Richtung beeinflussen, sind: Aceton, Cyclohexanon, Dioxan, Methylalkohol, Glykol, Glykol-monäthyläther und Glykol-monobutyläther. Die Zahl der wirksamen Substanzen dürfte aber wesentlich größer sein, da insgesamt nur 14 Stoffe geprüft sind, von denen sich 8 mehr oder minder brauchbar erwiesen.

5. Da es durch Zusatz der erwähnten chemischen Stoffe möglich ist, die Beizwirkung von Warmwasserbädern wesentlich zu steigern, ist weiter der Versuch gemacht, für die Flugbrandbekämpfung das Benetzungsverfahren zu verwenden. Dabei hat sich zunächst ergeben, daß es bei genügend hohen Temperaturen gelingt, auch ohne Zusatz chemischer Stoffe im Benetzungsverfahren gute Wirkung zu erzielen. Durch gleichzeitige Verwendung wirksamer Substanzen lassen sich weiter Einwirkungsdauer und Aufwandmengen an Beizflüssigkeit je Zentner wesentlich herabsetzen, so daß begründete Aussicht besteht, in Kürze zu einem praktisch verwendbaren Benetzungsverfahren zur Bekämpfung des Flugbrandes zu kommen, das der Forderung: sichere Wirkung bei möglichst kurzer Beiz-

dauer und Verwendung geringer Flüssigkeitsmengen gerecht wird. Soweit sich bisher sagen läßt, ist die Wirksamkeit der „Warmbenetzungsbeize“ an den Gebrauch geschlossener Beizbehälter gebunden, da nur hierdurch die Konstanthaltung der Feuchtigkeitsverhältnisse gewährleistet ist; außerdem dürfte der in geschlossenen Beizbehältern während der Beizung eintretende Sauerstoffmangel für den Erfolg der Behandlung ebenfalls von Bedeutung sein.

Schriftenverzeichnis.

1 Appel, O.: Über die Bekämpfbarkeit des Weizen- und Gerstenflugbrandes. Deutsche Landwirtschaftliche Presse, **35,** 1908. S. 799.

2 Appel, O. und Gaßner, G., Der derzeitige Stand unserer Kenntnisse von den Flugbrandarten des Getreides. Mitteilungen der Kaiserl. Biol. Anstalt, Heft 3, 1907.

3 Appel, O. und Gaßner, G., Ein neuer einfacher Apparat zur Durchführung der Heißwasserbehandlung des Saatgutes. Ebenda.

4 Appel, O. und Riehm, E., Untersuchungen über den Flugbrand des Getreides. Ebenda, Heft 8, 1909. S. 10.

5 Appel, O. und Riehm, E., Die Bekämpfung des Flugbrandes von Weizen und Gerste. Arb. aus der Kaiserl. Biol. Anstalt, Band VIII, Heft 3, 1911. S. 343—426.

6 Boresch, K., Zur Analyse der frühtreibenden Wirkung des Warmbades I—III. Biochem. Ztschr. **153,** 1924, S. 313—334. **170,** 1926, S. 466—496. **202,** 1928. S. 180—201.

7 Brefeld, O. und Falck, R., Die Blüteninfektion bei den Brandpilzen und die natürliche Verbreitung der Brandkrankheiten. Münster i. W., 1905.

8 Falck, R., Die Flugbrandarten des Getreides, ihre Verbreitung und Bekämpfung. Journal für Landwirtschaft, **56,** 1908. S. 173—182.

9 Gisevius und Böhmer, Ein Beitrag zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. Illustrierte landwirtschaftliche Zeitung, **30,** 1910. S. 725.

10 Grevel, F. K., Untersuchungen über das Vorhandensein biologischer Rassen des Flugbrandes des Weizens (Ustilago tritici). Phytopathologische Zeitschrift, **2,** 1930, S. 209—234.

11 Hecke, L., Ein innerer Krankheitskeim des Flugbrandes im Getreidekorn. Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Österreich. **7,** 1904. S. 1.

12 Hecke, L., Zur Theorie der Blüteninfektion des Getreides durch Flugbrand. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, **23,** 1905, S. 248.

13 Hickman, Fr. and Selby, A. O., Experiments in the prevention of grain smuts and the treatment of unsmutted wheat seed. Ohio Agr. Exp. Stat., Bull. No. 97. 1898. p. 43.

14 Hollrung, M., Das Lauwasserbad als Entbrandungsmittel. Fühlings Landwirtschaftliche Zeitung, 1921. S. 96—110.

15 Jensen, J. L., Nye Undersøgelser og Forsøg over Kornsorternes Brand. Meddelelser til Deltagerne i faellesindkjøbet of undersøgt Markfrø i Foraaret 1887. Markfrøkontorets 15de Aarsberetinng. Kopenhagen 1888. S. 20.

16 Jensen, J. L., Om Kornsorternes Brand. (Anden Meddelelse.) Kopenhagen 1888.

17 Jensen, J. L., Et Par Meddelelser om Bortskaffelsen af Vaarsaedens Brand. Meddelelser til Deltagerne i Faellesindkjøbet af undersøgt Markfrø i Foraaret 1890. Kopenhagen 1891.

18 Jensen, J. L., Tilbageblik paa de senere Aars Forsøg und Varmvandsmethoden. Meddelelser til Deltagerne i Faellesindkjøbet af undersøgt Markfrø i Foraaret 1894. Kopenhagen 1895.

19 Kellermann, W. A. and Swingle, W. T., Report on the loose smuts of cereals. Exp. Stat. Kansas State Agric. College. Sec. Ann. Rep. for the year 1889. 1890. p. 213.

20 Kostytschew, S., Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. I. Berlin 1926. S. 538 u. 540.
21 Lang, H., Pilztötung mit dem Getreidetrockenapparat. Illustrierte Landwirtschaftliche Zeitung, **28,** 1908. S. 603—604.
22 Lindau, in Sorauers Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Auflage. Berlin 1908. Band II, S. 342.
23 Mansholt, J. H., Warmwassermethode gegen Gerstenbrand. Deutsche Landwirtschaftliche Presse **27,** 1900. S. 1175.
24 Molisch, H., Über ein einfaches Verfahren, Pflanzen zu treiben (Warmbadmethode). Sitzungsbericht. Akademie der Wissenschaften, Wien, mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse, **117,** 1908. Abt. 1. **118,** 1909. Abt. 1.
25 Oetken, W., Versuche über den Steinbrand des Sommerweizens. Deutsche Landwirtschaftliche Presse, **40,** 1913. S. 35—37, S. 49—50.
26 Plaut, M., Über die Entwicklung von Beizverfahren, über Beizmittel und ihre Anwendung im Saatzuchtbetrieb. Zeitschrift für Züchtung, Reihe A Pflanzenzüchtung. Band XVII, Heft 3. 1932. S. 304—340.
27 Schander, R., Heißwasserbeize und Heißwasserbeizapparate. Deutsche Landwirtschaftliche Presse **37,** 1910. S. 333—334.
28 Schander, R., Versuche zur Bekämpfung des Flugbrandes im Weizen und der Gerste mittels Heißwasser und Heißluft. Landwirtschaftliches Centralblatt für die Provinz Posen. **38,** 1910. S. 43—44.
29 Schaumburg, A., Beiträge zur Frage der Bekämpfung des Weizenflugbrandes mit besonderer Berücksichtigung der Anforderungen des Saatzuchtbetriebes. (Aus dem Botanischen Institut Braunschweig.) Dissertation Jena 1924.
30 Sperling, J., Zur Frage der Gerstenflugbrandbekämpfung. Illustrierte Landwirtschaftliche Zeitung, **30,** 1910. S. 66—67.
31 Spieckermann, A., Beiträge zur Saatgutbeize. Illustrierte Landwirtschaftliche Zeitung, **34,** 1914. S. 665—666.
32 Störmer, K., Die in der Provinz im Sommer 1908 beobachteten Krankheiten an Getreide. I. Die durch pilzliche Parasiten verursachten Krankheiten. Landwirtschaftliche Wochenschrift für die Provinz Sachsen. Band 10, 1908. S. 306—309.
33 Störmer, K., Die Bekämpfung des Gerstenflugbrandes. Ebenda. 1910. S. 43—44.
34 Störmer, K., Zur Bekämpfung des Flugbrandes. Ebenda. 1910. S. 91—92.
35 Störmer, K., Über die Ergebnisse der im Verein mit der Gesellschaft zur Förderung deutscher Pflanzenzucht durchgeführten diesjährigen Flugbrandbekämpfungsversuche. Beiträge zur Pflanzenzucht, 1911. Heft 1. S. 84—102.
36 Störmer, K., Die Bekämpfung des Gersten- und Weizenflugbrandes. Deutsche Landwirtschaftliche Presse, **38,** 1911. S. 1006—1007, 1017.
37 Störmer, K., Pflanzenpathologische Tagesfragen VI. Die Bekämpfung der Streifenkrankheit und des Flugbrandes bei der Wintergerste. Landwirtschaftliche Wochenschrift für die Provinz Sachsen. 1911, S. 323—325.
38 Störmer, K., Über die Methoden zur Bekämpfung der Flugbrandarten. Fühlings landwirtschaftliche Zeitung, **60,** 1912. S. 145—147.
39 Swingle, W. T., The grain smuts: their causes and prevention. Yearbook of the United Stat. Dep. of Agric., 1894. 1895, p. 409.
40 Swingle, W. T., The grains muts: how they are caused and how to prevent them. U. Stat. Dep. of Agric. Farms Bull. No. 75. 1898.
41 Vegis, A., Über das Frühtreiben der Winterknospen von Hydrocharis morsus ranae L. durch hochtemperierte Wasserbäder. Jahrb. für wissenschaftliche Botanik, **75,** 1932. S. 726—770.
42 Winkelmann, A., Versuche zur Bekämpfung des Gerstenflugbrandes mit chemischen Mitteln. Fortschritte der Landwirtschaft, **7,** Heft 21. 1932. S. 535—536.

Aus dem Botanischen Institut der Universität Münster i. Westf.

Untersuchungen über den Einfluß gasförmiger Luftverunreinigungen auf die pflanzliche Transpiration nebst einigen Voruntersuchungen zur üblichen Methodik der Transpirationsbestimmungen.

Von

Alfred Heiling.

Mit 14 Textabbildungen.

Inhalt: I. Einleitung. — II. Methoden der Transpirationsbestimmung: 1. Bestimmung der Transpiration an ausgestanzten Blattstückchen. 2. Bestimmung der Transpiration an abgeschnittenen Blättern bei ungehinderter Wasserzufuhr. 3. Voraussetzungen für vergleichende Transpirationsmessungen. — III. Versuche über den Einfluß der schwefligen Säure auf die Transpiration: 1. Methodik. 2. Transpirationsversuche mit sichtbar schädigend wirkenden Gasmengen. 3. Transpirationsversuche bei Anwendung nicht sichtbar schädigend wirkender Gasmengen. 4. Versuche über den Einfluß kurzfristiger Begasungen auf die Transpiration von Blattstückchen. — IV. Besprechung der Ergebnisse.

I. Einleitung.

Die Frage nach dem Einfluß von gasförmigen Luftverunreinigungen auf die Vegetation gewann ein besonderes Interesse, als mit der Entwicklung der Industrie, insbesondere der Zunahme der Steinkohleverfeuerung um die Mitte des vorigen Jahrhunderts sich an der Vegetation industrieller Gebiete Schäden bemerkbar machten, die auf den Industrierauch zurückzuführen waren und die bald große wirtschaftliche Bedeutung gewannen. Am fühlbarsten empfand zunächst die Forstwirtschaft die Beeinträchtigung ihres Betriebes. In Revieren, die den Rauchgasen besonders ausgesetzt waren, traten Baumerkrankungen auf, die stellenweise solchen Umfang annahmen, daß die Rentabilität forstlicher Bodennutzung ganz oder wenigstens für bestimmte Kulturarten (Koniferen) sehr in Frage gestellt war. Da schon aus wirtschaftlichen Gründen in dicht besiedelten industriellen Bezirken die Waldwirtschaft zurückzugehen pflegt, ihre Stelle aber von einer besonders intensiven Landwirtschaft eingenommen wird, gewinnen die Rauchschäden auch für die Landwirtschaft besondere Bedeutung. Bergerhoff (1925) hat darauf aufmerksam gemacht, daß besonders deshalb die landwirtschaftlichen Rauchschäden von erhöhter Bedeutung sind, weil durch sie zum Teil die Vorteile, die der Landwirtschaft aus der Lage im innersten Thünenschen Ringe erwachsen, aufgehoben werden. Hierbei ist an die Erschwerung des Feldgemüsebaues zu denken.

aber auch daran, daß durch die Rauchempfindlichkeit wichtiger Feldfutterpflanzen, z. B. Rotklee, die betriebswirtschaftliche Grundlage für intensive Vieh-, insbesondere Milchwirtschaft, eingeengt wird.

Nachdem schon früh die schweflige Säure als schädlichster Bestandteil des Steinkohlenrauches erkannt war, konzentrierte sich das Interesse naturgemäß auf die Wirkungen vor allem dieses Gases. Verständlicherweise standen zunächst die von der schwefligen Säure hervorgerufenen auffallenden sichtbaren Schäden der Pflanze im Vordergrund der Betrachtung. Das rege, den äußeren Schäden gewidmete Interesse war mit der Forderung nach einwandfreien Symptomen für eine sichere Rauchschadenerkennung verbunden, eine Forderung, deren Erfüllung viel experimentelle und anatomische Arbeit gewidmet wurde, die aber trotzdem auch heute noch nicht befriedigend erfüllt ist. Es stellte sich heraus, daß mindestens an krautigen Pflanzen alle als Rauchsymptome beschriebenen Einzelmerkmale auch durch andere Faktoren verursacht sein können.

Das äußere Bild der sichtbaren Rauchschäden, die den Eindruck von Vertrocknungsvorgängen erwecken, mußte frühzeitig die Aufmersamkeit auf den Wasserhaushalt der Pflanzen lenken.

J. v. Schröder (1872), dem die ersten experimentellen Untersuchungen über den Einfluß der schwefligen Säure auf die Transpiration zu danken sind, gewann hierbei die folgendermaßen formulierte Ansicht: „Die schwefelige Säure bewirkt durch eine auf die Unterseite der Blätter vorherrschend schädliche Einwirkung Störungen in der gesamten Wasserzirkulation der von ihr betroffenen Pflanzen, infolge deren eine Depression der normalen Verdunstung und eine Herabsetzung der ganzen durch den Organismus durchgeleiteten Wassermengen stattfindet.“ Eine Herabsetzung der Transpiration wird nach v. Schröders Ansicht schon durch geringe SO_2-Mengen bewirkt; ihr Ausmaß wird aber mit steigender Konzentration des Gases größer. In den diese Ansicht stützenden Versuchen war auf die individuellen Unterschiede in der Transpirationsintensität zwischen verschiedenen Pflanzen einer Art keine Rücksicht genommen; auch ist aus der Versuchsbeschreibung nicht ersichtlich, ob die Vergleichsobjekte unter gleichen äußeren Bedingungen standen, besonders ob für gleiche Luftfeuchtigkeit in beiden Versuchsräumen Sorge getragen war, Umstände, welche die Beweiskraft der v. Schröderschen Versuche stark beeinträchtigen müssen. Die von ihm benutzten Konzentrationen waren sehr hohe; bei Versuchsende waren schon äußere Veränderungen an den Blättern bemerkbar. Schließlich steht der Ansicht von der transpirationshemmenden Wirkung der schwefeligen Säure sogar der folgende durch v. Schröder selbst mitgeteilte Versuch entgegen. Beim Vergleich der Wasserababgabe von drei abgeschnittenen Spitzahornblättern, von denen zwei schwefliger Säure ausgesetzt wurden, während das dritte unbegast blieb, ergab sich ein höherer Wasserverlust der begasten Blätter, den v. Schröder durch Lähmung der Stomata erklärt. Der Schluß von der nur quantitativ verschiedenen Wirkung ungleicher Gasmengen wurde aus einem Versuche an drei Spitzahornzweigen gezogen, in welchem der eine mit SO_2 von der Konzentration 1:1666 der zweite mit 1:8823 begast wurde und der dritte unbegast blieb. Es wurde ein Transpirationsverhältnis von 55:74:100 gefunden. Da aber beide Konzentrationen in kurzer Zeit sichtbar schädigend wirken, also dem gleichen pathologischen Größenordnungsbereich angehören, erscheint die Annahme einer qualitativ gleichen, also auch deprimierenden Wirkung so geringer SO_2-Mengen, wie sie in Industriegebieten meist vorkommen, durch diesen Versuch allein nicht hinreichend begründet.

Die viel zitierte Stelle aus Nägeli (1879), Theorie der Gärung: schweflige Säure „unterdrückt die Lebenstätigkeit des Plasmas, und das Vertrocknen ist eine sekundäre Erscheinung, welche immer eintritt, wenn in dem Gewebe der Blätter durch irgend eine schädliche Ursache die normalen Prozesse gestört werden,“ ist durch keinen einzigen Versuch an höheren Pflanzen belegt, dennoch kann diese Anschauung auch unserer Meinung nach für relativ hohe Konzentrationen anerkannt werden.

Auch Oliver (1893) kam nach den Resultaten eigener Untersuchungen zu der Ansicht, daß die pflanzliche Transpiration durch die schwefliche Säure herabgesetzt werde. Seine nach der Potometermethode ausgeführten Versuche an Zweigen von *Acer pseudoplatanus*, die mit hohen SO_2-Konzentrationen (1 : 6000 bis 1 : 13000) begast wurden, konnten jedoch keinerlei Aufschluß über die Transpiration geben, da die von Oliver gemachte Voraussetzung, daß die beiden Prozesse, Wasseraufnahme und Wasserabgabe in direkter quantitativer Beziehung zueinander ständen, irrig ist. Doch auch das Ausmaß der Depression der Wasseraufnahme und die Schnelligkeit, mit der diese Reaktion nach Beginn der Begasung (nach 5 Minuten) in seinen Versuchen auftrat, erscheinen unwahrscheinlich; über eine Nachprüfung seiner Versuche soll an anderem Orte berichtet werden. Andererseits ist eine Herabsetzung der Wasseraufnahme durch solche schon sichtbar schädigenden Gasmengen, wie sie von Oliver angewandt wurden, verständlich, da notwendigerweise mit der Zerstörung der Saugkraft größerer oder kleinerer Blattbezirke die Wasseraufnahme geringer werden muß.

Im Gegensatz zu v. Schröder und Oliver kam Wieler (1905) nach umfangreichen Untersuchungen zu der Ansicht, „daß hohe Konzentrationen die Wasserabgabe beeinflussen können, da sie das Blattgewebe schädigen, daß aber bei stärkerer Verdünnung der Säure, wo Beschädigungen ausbleiben, keine Beeinflussung der Säure statthat.“ (S. 191/192.) Da in der Mehrzahl seiner Versuche die Transpiration nicht direkt bestimmt, sondern aus der Veränderung der relativen Feuchtigkeit des Luftstromes, der das Versuchsgefäß durchströmte, nach den Angaben eines Haarhygrometers geschätzt wurde, mußten, da die Messung mit einem Haarhygrometer gerade unter solchen Verhältnissen nur gröbste Werte liefern kann, feinere und raschere Veränderungen im Transpirationsverlauf sich der Beobachtung entziehen; hierauf hat bereits Burgerstein (1920) hingewiesen. War in Wielers Versuchen durch den Vergleich der Transpirationsgrößen eines Objektes in aufeinander folgenden, häufig relativ weit auseinanderliegenden Zeitperioden die in den individuellen Transpirationsunterschieden liegende Fehlerquelle ausgeschaltet, so entstand eine neue im Wechsel der äußeren Bedingungen, da eine völlige Konstanz derselben für längere Zeit nur sehr schwer zu erreichen ist. Geringere Wasserabgabe unter SO_2-Einwirkung fand Wieler nur bei gleichzeitiger sichtbarer Schädigung der Versuchsblätter; in allen anderen Fällen war der Wasserverlust während der Begasung gleich groß oder noch größer als in reiner Luft. Ebenso wurden in anderen, nach der Wägungsmethode ausgeführten Versuchen in einer Atmosphäre von dem SO_2-Gehalt von 1 : 54000 bei *Cereus grandiflorus* und 1 : 67000 bei *Allium cepa* eine stärkere, im letzten Falle sogar doppelt so große Wasserabgabe gefunden. In allen Resultaten, die eine Steigerung der Transpiration ergeben hatten, sah Wieler jedoch nur Zufallswerte.

Neger und Lakon (1914) machten Wieler gegenüber den Einwand, daß er zu niedrige Konzentrationen bei ungenügend langer Versuchsdauer benutzt habe. Ihre eigenen Versuche, in welchen mit nicht näher bestimmten Gasmengen bis zum Eintritt sichtbarer Schädigung begast wurde, ergaben, daß solche bereits geschädigten Pflanzenteile weniger Wasser verloren und aufnahmen als ihre gesunden Vergleichsobjekte, bestätigten also die Befunde v. Schröders und Wielers. Daneben verglich Neger die Transpiration abgeschnittener nicht in Wasser stehender gesunder und rauchkranker Fichtenzweige mit dem Ergebnis, daß „die Wasserabgabe kranker Triebe ceteris paribus — d. h. bei unterbundener Wasserzufuhr viel größer ist, als diejenige gesunder Triebe“ (S. 214). Für diese

Erscheinung wird die in einem anderen Versuche und an einem anderen Objekte beobachtete Steigerung der Spaltenappertur durch SO_2 verantwortlich gemacht. Nach Neger und Lakons zusammenfassender Formulierung „stellt sich die Wasserabgabe streng genommen so dar, daß ihr Wert zunächst rapide steigt und dann, wenn das im Trieb enthaltene Wasser erschöpft ist, ebenso schnell fällt, während der Wert der Wasserabgabe beim gesunden Kontrollzweig eine sich $\pm$-gleichbleibende Größe darstellt, welche höchstens entsprechend den Tag- und Nachtzeiten geringe Schwankungen aufweist (S. 232). Beachtenswert ist aber die Erkenntnis, daß die Hemmung der Wasserabgabe „nicht" als „eine direkte Wirkung des sauren Gases, sondern als eine Folge der Tötung lebender Zellen" anzusehen ist (S. 232). Der an gleicher Stelle geäußerten Meinung, „daß der Vorgang der Transpiration als solcher durch SO_2 nicht oder jedenfalls nicht wesentlich beeinflußt" wird, fehlt die notwendige nur durch experimentelle Untersuchung der Wirkung geringer nicht sichtbar schädigender SO_2-Mengen zu schaffende Begründung.

Gerlach (1914) erschloß die Hemmung von Wasseraufnahme und Transpiration durch die Rauchgase aus dem von ihm festgestellten geringeren Wasserbedarf eingetopfter rauchkranker Fichten. Als Kontrollen dienten gleich große und gleich alte Pflanzen, die einem weniger unter Rauch leidenden Standort entnommen waren, zum Teil aber auch schon äußere Schäden zeigten; der Wasserbedarf dieser Objekte kann also nicht als „normal" gelten. Schon deshalb lassen diese Untersuchungen, abgesehen von der geringen Eignung der Versuchsanstellung als Methode zur Bestimmung des Wasserhaushaltes keine sicheren Schlüsse auf den Raucheinfluß zu. Doch auch bei Voraussetzung der Beweiskraft dieser Ergebnisse wären sie nur eine Bestätigung der früheren Befunde, daß bei sichtbarer Beschädigung Wasseraufnahme und Wasserabgabe durch Verlust transpirierender Fläche herabgesetzt werden.

Schließlich sei noch die von Stoklasa (1923) gemachte Beobachtung erwähnt, daß nach einer eine Woche dauernden Begasung mit relativ großen SO_2-Mengen (Konzentration: 1 : 2000 und 1 : 1000) der prozentuale Trockensubstanzgehalt von Fichtennadeln um 19,76 % und 28,33 %, derjenige von Gerste um 16,86 % bzw. um 46,79 % gestiegen war. Stoklasa folgert hieraus, „daß durch den Einfluß des Schwefeldioxyds, namentlich ..... wo eine starke Konzentration von Schwefeldioxyd einwirkte, die Wasserabgabe sehr intensiv vor sich ging. Die Pflanzen starben nach kurzer Zeit ab" (S. 77). Da hier nur ein Absterbevorgang zur Beobachtung gelangt ist, geben die Zahlen Stoklasas vom Verlauf der wirklichen Transpiration keine Vorstellung. Er selbst schließt sich an anderer Stelle seines Werkes ohne Erwähnung seiner eigenen Versuche in dieser Frage den Ansichten von Neger und Lakon an: „Aus den Versuchen von Wislicenus und Neger wird es uns klar, daß unter dem Einfluß der schwefligen Säure eine Herabsetzung der Wasseraufnahme stattfindet, welche sicher nicht kleiner, sondern viel eher größer als die Herabsetzung der Wasserabgabe ist und demnach zu einem Vertrocknen der Blätter führen muß" (S. 112).

Als einzig sicheres Resultat scheint sich demnach zu ergeben, daß sichtbar geschädigte Blätter bei Wasserzufuhr weniger Wasser verlieren als normale Vergleichsobjekte in gleichen Zeiten, daß dagegen bei unterbundener Wasserzufuhr der auf den Wassergehalt bezogene Wasserverlust bei geschädigten Blättern größer sein kann. Die Beeinflussung der wirklichen Transpiration durch minimale Gaskonzentrationen ist durch diese Versuche nicht geklärt worden.

Wie werden nun diese Ergebnisse in der Literatur, besonders in zusammenfassenden Darstellungen des Rauch- und Transpirationsproblems bewertet? Der v. Schröderschen Ansicht von der Transpirationsdepression schloß sich Sorauer (1909) an, ebenso schon

früher Hartig (1896), der Transpirationsherabsetzung „als eine notwendige Folge der Schädigung" ansah und sie durch den „Verschluß der Spaltöffnungen" erklärt, der bei der „Tötung der Schließzellen, die doch zweifellos mit der Rotfärbung gleichzeitig erfolgt", eintreten soll (S. 17). Mit einiger Einschränkung stimmte Borggreve (1895) der von v. Schröder aufgestellten Behauptung zu. Auch Haselhoff und Lindau (1903) sahen in den Versuchsresultaten v. Schröders den Beweis für die transpirationshemmende Wirkung der schwefligen Säure. Ihre Stellungnahme zu dieser Frage ist jedoch höchst unklar, da es an anderer Stelle desselben Werkes heißt: „Durch die Einwirkung schwefliger Säure findet eine Störung der Wasserzirkulation statt, welche sich in verstärkter Wasserabgabe äußert und zum Vertrocknen der Blätter führt." (S. 145.) Burgerstein (1904, 1920, 1926) nimmt nach den Befunden von v. Schröder und Neger und Lakon eine Depression der Wasserabgabe durch die schweflige Säure an, weist aber auf das entgegengesetzte Resultat der Versuche Stoklasas hin (1925). Die ebenfalls widersprechenden Ergebnisse Wielers erklärt er aus der Ungenauigkeit, welche den Transpirationsmessungen nach den Angaben eines Haarhygrometers zukommt, da diese „Methode den Erhalt auch nur halbwegs genauer Resultate" (1920, S. 166) nicht erlaube. Seybold (1929) verweist auf die von Burgerstein zusammengestellte Literatur; den Einfluß von Gasen auf die physikalische Komponente der Transpiration sieht Seybold (1930, S. 35) in einer Herabsetzung der Verdunstungsgeschwindigkeit, da mit der Erhöhung des Gesamtgasdruckes über dem verdunstenden System der Verdunstungskoeffizient kleiner werde. Niggemeyer (1915) lehnt die v. Schrödersche Auffassung von der SO_2-Wirkung auf die Transpiration ab und stützt sich dabei auf die Versuche von Neger. Reich (1917) sieht die Wirkung der schwefligen Säure in der Unterbindung des „Zustroms des Wassers und der Säfte zu der assimilierenden Zelle" (S. 219), wodurch die Zelle plötzlich absterbe. Wobst (1925) entnimmt den bislang vorliegenden experimentellen Ergebnissen, daß „die schweflige Säure eine schädliche Wirkung und Störungen in der Gesamtwasserzirkulation (Transpiration)" verursache. „Die Wasserabgabe ist bei rauchkranken Trieben größer als die Wasseraufnahme, letztere ist herabgesetzt und führt zur Vertrocknung der Blätter". (S. 21.) Sehr unbestimmt heißt es in dem Werk von Flury-Zernik (1931) über schädliche Gase, daß „Assimilation, Transpiration, Stoffwechsel" geschädigt würden. Im Falle unsichtbarer Schäden „werden durch Beeinflussung von Assimilation, Transpiration usw. vor allem die Wachstumsvorgänge gehemmt" (S. 548). Die von keinerlei Sachkenntnis getrübte Würzburger Dissertation des Zahnarztes Höhn (1931) bietet nichts als einen mißlungenen Versuch, „die Einwirkungen von Gasen, Dämpfen, Staub und Rauch auf die Pflanzen zu sammeln und hierdurch ein viele Fälle umfassendes Material zur Beurteilung solcher Fragen an der Hand zu haben." (S. 7.)

Die obige Zusammenstellung zeigt, wie verworren die Anschauungen über den Einfluß der schwefligen Säure auf den Wasserhaushalt der Pflanzen sind. Symptomatisch für diese Verworrenheit scheint uns, daß in dem bekannten Compendium von Haselhoff-Lindau auf Seite 192 genau die entgegengesetzte Anschauung entwickelt wird als auf Seite 145.

Wie ist es nun möglich, daß trotz des steigenden Interesses an der Rauchfrage die Entscheidung eines so wichtigen Problems unterblieb? Den Grund dafür sehen wir darin, daß mit der Entdeckung der Giftwirkung der schwefligen Säure auf den Assimilationsapparat und damit auf die Photosynthese das Interesse an Transpirationsfragen in den Hintergrund getreten war. Schon Oliver (1893) fand eine außerordentliche Empfindlichkeit des Chlorophylls gegenüber der schwefligen Säure.

Sorauer und Ramann (1899) konnten durch mikroskopische Untersuchungen schon Veränderungen an den Chloroplasten von Blättern wahrnehmen, die im übrigen ein noch völlig normales Aussehen zeigten. Wislicenus (1898) zog aus der von ihm beobachteten höheren Rauchempfindlichkeit der Bäume bei tätiger Assimilation den Schluß,

daß die schweflige Säure ein spezifisches Assimilationsgift sei, welches schon in geringsten Spuren Störungen der Photosynthese verursache.

Wieler (1905) konnte an verschiedenen Objekten eine Herabsetzung der Assimilation und eine Verzögerung der Ableitung der Assimilate feststellen. Ebenso fanden Neger und Lakon (1914) Assimilationshemmung durch schweflige Säure bei *Elodea canadensis* und erklären diese wie Wislicenus durch „Anlagerung" der schwefligen Säure „an intermediär entstehende Aldehyde". Auch soll nach der Meinung dieser Autoren SO_2 das empfindlichste Reagens für photosynthetische Tätigkeit des Blattes sein. Ebenso beruht nach Stoklasa (1923) die Schadenswirkung der schwefligen Säure hauptsächlich in der Störung der assimilatorischen Tätigkeit des pflanzlichen Organismus. Durch das Gas soll das Chlorophyll durch Abspaltung der Basen und des Phythols abgebaut werden. Daß die pflanzenschädigenden Wirkungen der Rauchgase auf der Hemmung der photosynthetischen Funktion beruhen, wurde in letzter Zeit besonders ausdrücklich von Noack (1929) und Wehner (1928) betont. Nach der Ansicht dieser Autoren besteht der schädigende Einfluß der schwefligen Säure auf die Pflanzen in der Abbindung des katalytisch wirksamen Chloroplasteneisens. Zu dieser Ansicht führten Noack Versuche an Gerstenblättern. die eine deutliche Zunahme des wasserlöslichen Eisens nach Begasung mit SO_2 ergaben.

Wie aus dem Gesagten hervorgeht, hat sich in letzter Zeit die Ansicht gefestigt, daß die primäre Schadenswirkung der schwefligen Säure in der Beeinflussung des assimilatorischen Apparates zu suchen ist. Dem gegenüber hat Heilbronn (1930) auf Grund von Erfahrungen, die in Versuchen mit „komplexer Industrieluft" an Callisia, Gurke und Tomate gewonnen wurden, auf die Notwendigkeit hingewiesen, „der Frage erhöhte Aufmerksamkeit zu widmen, ob die heute im Vordergrund des Interesses stehende Schädigung des assimilatorischen Apparates wirklich die primäre und wesentlichste ist, oder ob nicht, wie schon von früheren Autoren gelegentlich vermutet, aber immer wieder verworfen, die Störung des Wasserhaushaltes als früheste Rauchwirkung anzusehen sei." (S. 393.) Diese Notwendigkeit besteht um so mehr, als, wie früher gezeigt, auch einigermaßen sichere experimentelle Erfahrungen nur über die Wirkung hoher, sichtbar schädigender SO_2-Konzentrationen, nicht aber solche über den Einfluß der für dieses Problem in erster Linie in Frage kommenden niedrigeren Konzentrationen auf die Transpiration vorliegen. Nachdem Heilbronn in der oben erwähnten Mitteilung gezeigt hat, daß Industrieluft unter gewissen Bedingungen auf eine ganze Reihe von pflanzlichen Funktionen stimulierend einwirkt, mußte die grundsätzliche Frage, ob die den älteren Anschauungen zugrunde liegende Vorstellung von der qualitativ gleichen Wirkung hoher und niedriger Konzentrationen zu Recht besteht, neu aufgeworfen werden. Unter diesen Gesichtspunkten sind die vorliegenden Untersuchungen begonnen.

II. Methoden der Transpirationsbestimmung.

1. Bestimmung der Transpiration an ausgestanzten Blattstückchen.

Vergleichende Transpirationsbestimmungen unter verschiedenen Außenbedingungen begegnen unter anderem der großen Schwierigkeit, daß die zu vergleichenden Objekte immer ungleiche Flächen besitzen.

eine Schwierigkeit, die sich durch Wägung ausgestanzter korrespondierender Blattstücke überwinden läßt. Trotz erheblicher Bedenken physiologischer Natur gegen diese Methode lohnt sich, ihre Brauchbarkeit für ein spezielles Problem zu prüfen, bei welchem zunächst weniger der Gesamtwasserhaushalt, als die Wasserpermeabilität von Blattzellen unter dem Einfluß bestimmter Außenbedingungen in Frage steht.

Aus den Blättern der Versuchspflanze wurden mit einem scharfen Korkbohrer unter Drehung Blattstücke ausgestanzt und in Perioden von jeweils gleicher Zeitdauer auf einer Torsionswage von 0,01 mg Wägegenauigkeit gewogen. Die Blattstückchen hatten in allen Versuchen dieser Art eine Flächengröße von 50,4 qmm. Die Differenz der durch zwei aufeinanderfolgende Wägungen festgestellten Gewichte ergibt die von dem Blattstückchen in dieser Periode abgegebene Wassermenge.

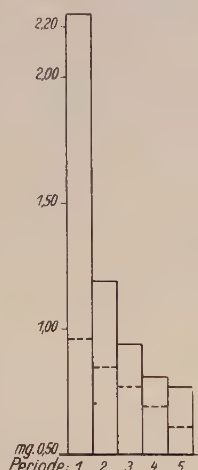


Abb. 1. Wasserverlust von Callisia-Blattfragmenten in aufeinander folgenden Perioden von je 12 Minuten Dauer in dampfgesättigter Atmosphäre und bei 60 % relativer Luftfeuchtigkeit.

Bei solchen Versuchen ergab sich naturgemäß, daß der Wasserverlust von Wägung zu Wägung geringer wurde; je länger der Versuch dauerte, umso ähnlicher wurden die festgestellten Gewichtsdifferenzen. Bei graphischer Darstellung der ermittelten Gewichte solcher Blattstückchen ergibt sich eine fallende Kurve, deren Steilheit gegen Ende des Versuches immer mehr abnimmt.

In Tabelle 1 ist die Wasserabgabe von zwei aus einem Callisiablatte ausgestanzten Blattfragmenten in aufeinander folgenden Perioden von je 12 Minuten Dauer angegeben. Das eine der Objekte befand sich zwischen den Wägungen in der nahezu dampfgesättigten Atmosphäre einer feuchten Kammer, das andere bei zirka 60 % relativer Luftfeuchtigkeit im Arbeitsraum. In beiden Fällen wird der Wasserverlust von Periode zu Periode kleiner. In der trockenen Luft sinkt die Wasserabgabe bei absolut höheren Wasserverlusten mit zunächst großer, dann abnehmender Steilheit. Bei dem in feuchter Kammer befindlichen Blattstückchen sinkt die Wasserabgabe weniger steil; dafür hält aber der Abfall über längere Zeit in gleicher Stärke an.

In diesem Versuche lag zwischen je zwei Wägungen eine verhältnismäßig lange Zeit. Daß auch bei kürzeren Wägungsintervallen kein wesentlich

Tabelle 1.
Wasserverlust von Callisia-Blattstückchen in mg.

Blattfragment	In Periode				
	1	2	3	4	5
in feuchter Kammer	0,96	0,85	0,77	0,69	0,61
bei 60 % rel. Luftfeuchtigkeit . .	2,25	1,19	0,94	0,81	0,77

Dauer der Periode: 12 Minuten. (Vergl. Abb. 1.)

geänderter Transpirationsverlauf gefunden wird, daß insbesondere auch unmittelbar nach dem Abschneiden kein Transpirationsanstieg erfolgt, zeigt der in Abb. 2 wiedergegebene Versuch, in dem ein Kleeblattstückchen eine Stunde lang jede Minute gewogen wurde. Auch hier erfolgt ein deutlicher Abfall der Transpiration. Die Steilheit der fallenden Kurve nimmt immermehr ab; die Kurve wird nahezu zur Geraden. Aus diesen Beispielen erhellt, daß die Größe des in einem bestimmten Zeitintervall beobachteten Transpirationsabfalls bei unserer Methodik abhängig ist von der Länge der seit Versuchsbeginn verstrichenen Zeit und den die Transpiration beeinflussenden Außenfaktoren.

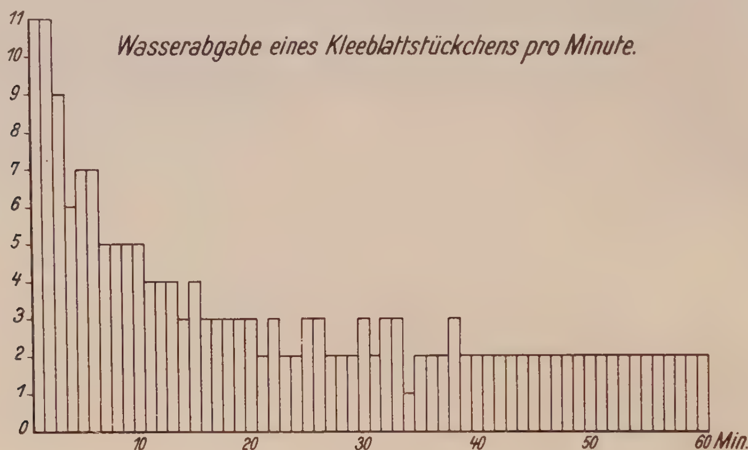


Abb 2.
Die Schwankungen der Kurve rühren daher, daß nur volle Gewichtseinheiten (0,01 mg) abgelesen wurden.

Der Transpirationsabfall erklärt sich leicht aus der fortschreitenden Austrocknung des Blattes und der hierdurch bedingten Verkleinerung des Dampfdruckpotentials. Es ergibt sich hieraus die Folgerung, daß der Abfall um so größer sein und um so schneller einsetzen muß, je günstiger die Bedingungen der Austrocknung sind, d. h. je größer die Evaporation ist und je geringere Verdunstungswiderstände das Objekt einzuschalten vermag.

Eine diesen Umständen entsprechend größere oder kleinere, mehr oder weniger schnell einsetzende Abnahme der Transpiration abgeschnittener Pflanzenteile ohne Wasserzufuhr ist dann auch vielfach beschrieben. (Stocker, 1929, 1931; Vassiljev, 1931.) Besonders eingehend hat sich Schratz (1931) mit dieser Frage befaßt; er kommt nach seinen Versuchen zu der Ansicht, daß die Abweichung von der wirklichen Transpiration „zunimmt, je mesomorpher ein System ist, je höher die absolute Transpiration zur Zeit des Abschneidens war, je länger die Zeit nach dem Abschneiden bis zum Zurückwägen beträgt und je größer das Dampfdruckdefizit der Luft ist." (S. 213.) Hiermit stimmen unsere Erfahrungen über den Transpirationsabfall überein.

Statt eines Transpirationsabfalls muß aber ein Anstieg der Wasserabgabe erfolgen, wenn die zunehmende Austrocknung zunächst von einem anderen Vorgang, der den Wassersättigungsgrad der verdunstenden Gewebe steigert, überlagert wird.

Auf einen solchen durch das Abschneiden ausgelösten Vorgang, das Aufhören der Zugspannung in den Gefäßen, ist von Iwanoff (1928) hingewiesen, der hierdurch den von ihm beobachteten Anstieg der Wasserabgabe kurz nach dem Abschneiden erklärte. Iwanoffs Befunde wurden von Kamp (1930) bestätigt und in einzelnen Punkten erweitert Ebenso fanden Firbas (1931) und Vassiljev (1931), daß die Wasserabgabe kurze Zeit nach dem Abschneiden anstieg. Schratz (1931) beobachtete die gleiche Erscheinung nur an einem seiner Objekte und nur unter bestimmten Bedingungen.

In unseren Versuchen war ein regelmäßiger Anstieg nicht festzustellen. Die Transpirationskurve fiel von Anfang an. Dies Verhalten erscheint verständlich, da bei einem krautigen und relativ kleinen Objekt nicht mit hohen Spannungen in den Gefäßen zu rechnen ist.

Somit kann nach unseren Versuchen der auch kurze Zeit nach dem Ausstanzen gemessene Wasserverlust von Blattstücken demnach zwar nicht als wirkliche normale Transpirationsgröße gelten; vielmehr ist für unsere Versuche der Ansicht von Schratz beizupflichten, daß der ermittelte Wasserverlust von der wahren Transpirationsgröße abweicht. Jedoch darf auch für unsere Versuche gelten, daß, wie Schratz formulierte, zwar diese Methode zur Gewinnung absoluter Transpirationsgrößen unbrauchbar ist, wohl aber „gleichzeitig angestellte Wägungsserien zum vergleichenden Studium des Verdunstungsvorganges von verschiedenen Pflanzen“ und auch, wie wir einfügen möchten, von Pflanzen derselben Art unter verschiedenen Außenfaktoren „brauchbar sind, da zwischen den Verdunstungswerten aus bestimmten Zeiten und der normalen Transpiration gewisse Beziehungen bestehen“ (S. 218.) Da es sich in der bei dieser Untersuchung gegebenen Fragestellung nicht um das Erfassen der normalen Transpirationsgröße von Pflanzen, sondern um das Studium der Einwirkung eines äußeren Faktors auf die pflanzliche Transpiration in vergleichenden Versuchen handelt, darf diese Art der Versuchsanordnung als für diesen Zweck geeignet gelten.

Eine zweite Fehlerquelle dieser Methode bildet der Umstand, daß die an ausgestanzten Blattfragmenten gemessene Gewichtsabnahme neben der wirklichen Transpiration auch den von den austrocknenden Wundrändern herrührenden Wasserverlust enthält.

Zur Ermittlung des Anteils der Wundrandwirkung an der Gesamtwasserabgabe solcher Blattstückchen wurden aus Rotkleeblättern Blattstücke in der gewohnten Weise ausgestanzt und in Abständen von 10 Minuten gewogen. 60 Minuten nach der ersten Wägung, als die in je 10 Minuten abgegebenen Wassermengen ziemlich konstant geworden waren, wurde jedes Blattstückchen mit einem scharfen Rasiermesser radial in zwei gleiche Teile geteilt, die Wundfläche also nochmals um eine meßbare Größe, nämlich um den doppelten Durchmesser des kreisrunden Blattstückchens vergrößert. Es verhielten sich die Wundränder vor und nach dem Durchschneiden, da $r = 4$ mm war, wie 100 : 164. Der

durch die Durchschneideoperation an sich bedingte Gewichtsverlust (durch am Messer haften gebliebene Blattpartikelchen usw.), der nur in dem Gewichtsverlust der Durchschneideperiode sich äußern kann, muß natürlich bei Beurteilung der Ergebnisse außer acht gelassen werden.

In den nachstehenden Zahlenreihen sind für zwei solcher Versuche die in den einzelnen 10 Minuten langen Perioden gemessenen Wasserverlustwerte angegeben. Der Wert der Durchschneideperiode ist eingeklammert. I: mg 0,23, 0,14, 0,15, 0,15, (0,16), 0,27, 0,24, 0,19, 0,19, 0,18, 0,14, 0,16, 0,08, 010. II: mg 0,23, 0,16, 0,17, 0,14 (0,23), 0,27, 0,20, 0,18, 0,20, 0,13, 0,17. Nach dem Durchschneiden stieg die Wasserabgabe erst stark an, um allmählich wieder zu fallen; erst nach einer kürzeren oder längeren Zeit wurde der Ausgangswert wieder erreicht. Hieraus erhellt die große Bedeutung des Anteils der Wundrandwirkung am Gesamtwasserverlust. Da der an ausgestanzten Blattfragmenten gemessene Wasserverlust aus zwei Komponenten besteht, der von verletzten Zellen und Gefäßen herrührenden Wasserabgabe und der wirklichen Transpiration und da die zweite dieser Komponenten, die Transpiration infolge der fehlenden Wasserzuführung dauernd sinkt, muß der Anteil jeder der Komponenten an der Gesamtwasserabgabe bei längerer Beobachtung sich dauernd ändern. Der Einfluß der Wundränder ist umso größer, je schwächer die Transpiration an sich ist. In dem geschilderten Versuch war an dem Zeitpunkt, an dem das Blattstück durchschnitten wurde, 60 Minuten nach dem Ausstanzen, die Transpiration schon stark zurückgegangen; der Anstieg der Wasserabgabe, den der neue Wundrand bewirkte, war sehr stark. Erfolgt das Durchschneiden in einer früheren Periode, so ergeben sich nicht mehr absolut größere Werte; es verringert sich nur die Steilheit des Abfalls (vgl. Tabelle 2).

Tabelle 2.
Wasserabgabe in mg.

Blattstück Nr.	Periode						
	1	2	3	4	5	6	8
1	0,51	0,41	(0,47)	0,30	0,26	0,18	0,20
2	0,59	0,43	0,29	0,20	0,20	0,18	0,17

Blattstück Nr. 1 wurde in der 3. Periode durchschnitten.

Der Vergleich der Wasserabgabe des durchschnittenen Blattstückes mit derjenigen des intakten aus dem gleichen Blatte an korrespondierender Stelle ausgestanzten Fragmentes ergab natürlich einen stärkeren Wasserverlust des durchschnittenen Objektes: der Unterschied nahm aber rasch ab, um nach wenigen Perioden entweder unbedeutend zu werden oder ganz zu verschwinden. Es erhellt also aus diesem Versuch, daß bei größerer Transpirationsintensität der Anteil des Wundrandes an der Gesamtwasserabgabe kleiner wird.

In einem weiteren Versuche wurden wieder je zwei Blattstückchen an einander entsprechenden Stellen des gleichen Blattes ausgestanzt; je eins wurde sogleich nochmals in der gewohnten Weise geteilt. Darauf wurden alle Blattstückchen in die feuchte Kammer gebracht und in Abständen von 12 Minuten gewogen. Um das Ergebnis dieser Versuche deutlich zu machen, wurden die an den durchschnittenen Blattstücken in Perioden von je 10 Minuten Dauer gemessenen Gewichtsverluste in Prozenten der Wasserabgabe der Vergleichsobjekte ausgedrückt. Als Beispiel sei eine der so gewonnenen Zahlenreihen mitgeteilt: 122, 141, 125, 138, 133, 120, 130. In allen Vergleichspaaren war die Wasserabgabe des durchschnittenen Blattstückes größer als die des nicht durchschnittenen Objektes, und zwar im Mittel aller Versuche um 16 %, während der Wundrand durch das Durchschneiden um 64 % vermehrt wurde. Die absolute Erhöhung der Wasserabgabe war also keine sehr bedeutende. Die in der mitgeteilten Zahlenreihe zu beobachtenden Schwankungen der relativen Werte der einzelnen Perioden sind typisch für alle Versuche an ausgestanzten Blattstücken. Auf die Ursache soll weiter unten noch einmal eingegangen werden.

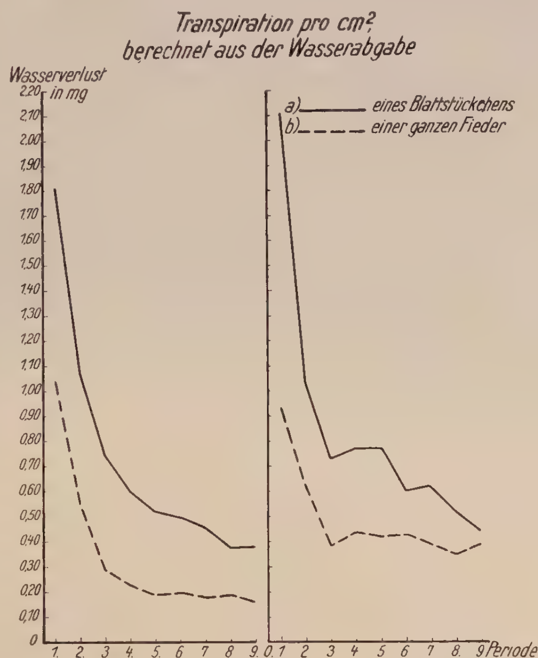


Abb. 3.
Versuch CXIV.

Man erkennt demnach 1. ein Schwanken der absoluten Werte in aufeinanderfolgenden Perioden überhaupt, abgesehen vom „natürlichen" Abfall, der durch die Verarmung der wasserführenden und der quellungsfähigen lebenden und toten Elemente an Wasser und durch die zunehmende Konzentration des Zellsaftes bedingt ist, 2. ein Schwanken der Verhältniswerte korrespondierender Elemente desselben Blattes.

Die Wundrandwirkung muß weiter um so größer sein, je höher der Anteil des Wundrandes an der Gesamtfläche ist, d. h. je kleiner allgemein die Fläche ist. In unseren Versuchen betrug nun der Anteil des Wundrandes an der gesamten transpirierenden Fläche bei den durchschnittenen Objekten 20,4 % gegenüber 12,5 % bei den nicht durchschnittenen; bei letzteren muß also die Wirkung des Wundrandes von geringerer Bedeutung sein als im ersten Falle.

Die Erhöhung der Wasserabgabe durch vermehrten Wundrand beruht nicht nur auf dem lethalen Wasserverlust verletzter Zellen, zu einem kleinen Teil ist er auch der relativen Vergrößerung der Gesamtfläche zuzuschreiben. Ebenso könnte eine Wundreizwirkung (Atmungssteigerung und damit Erhöhung der Blattemperatur) die Transpiration um einen kleinen Wert erhöhen.

Um das Verhältnis kennen zu lernen, in dem die flächenrelativen Transpirationsgrößen zu einander stehen, wenn die Wasserabgabe einmal an einem Blattstückchen, das andere Mal an einer ganzen Fieder desselben Blattes bestimmt wird, gelangte folgender Versuch zur Ausführung:

Aus einer Seitenfieder eines Kleeblattes wurde ein Blattstückchen ausgestanzt und nach der gewohnten Weise auf der Torsionswaage gewogen; die andere Seitenfieder wurde am Stielchen abgetrennt und ihre Wasserabgabe auf einer analytischen Waage gemessen. Dann wurden beide Transpirationswerte auf gleiche Flächen umgerechnet. Die Ergebnisse des Versuches sind in Abb. 3 graphisch dargestellt.

Die an den Blattstückchen gemessenen Werte sind um 112 und 79 % höher als die von der ganzen Fieder abgegebenen Wassermengen gleicher Flächen. Bei mehrmaliger Wiederholung dieses Versuches ergaben sich folgende relative Werte für die flächenbezogene Wasserabgabe ausgestanzter Blattstücke, wenn der Wasserverlust der zugehörigen ganzen Fieder = 100 gesetzt wurde: 174, 141 und 168.

Für die Erscheinung der größeren flächenrelativen Transpiration der Blattfragmente sind wohl mehrere Ursachen anzunehmen. Eine davon ist sicher in der Wundrandwirkung und der Vermehrung des Randanteils bei ausgestanzten Stücken zu sehen. Weiter mag aber eine vermehrte Randfeldaktivität der kleineren Flächen im Sinne Seybolds für ihre höhere Transpiration verantwortlich sein. Nach Seybolds Meinung ist die Randfeldaktivität bei Flächen mittlerer Blattgröße im allgemeinen nicht von großer Bedeutung. Hiervon sollen jedoch „die Transpirationssysteme hygromorpher Pflanzen mit starker Cuticular-Transpiration“ eine Ausnahme machen. (Seybold 1929, S. 198.)

Weiter ist auch durch diese Versuche dargetan, daß es unzulässig ist, aus der an einem Teil gemessenen Transpirationsgröße die des ganzen zu errechnen, worauf in der Literatur schon wiederholt hingewiesen ist. (Burgerstein, Arland 1929.)

Es scheint sich somit zu ergeben: Die mit der Torsionswaage gemessenen Gewichtsverluste ausgestanzter Blattstückchen enthalten neben dem durch Transpiration erfolgten auch den durch Wundrandwirkung verursachten Wasserverlust. Der Anteil dieses Faktors steigt mit dem Grade der Austrocknung (Sinken der Transpiration) und mit zunehmendem Anteil der Wundfläche an dem Gesamtareal. Wenn, wie es bei unseren Versuchen immer geschah, das Blattstück aus dem vollturgescenten Blatt ausgestanzt wurde, ist der Anteil der Wundwirkung jedenfalls nicht so

groß, als daß durch ihn die erhaltenen Werte ihre Eignung als Vergleichsmaßstäbe der Transpiration verlören.

2. Bestimmung der Transpiration an abgeschnittenen Blättern mit ungehinderter Wasserzufuhr.

Für einen Teil der Versuche gelangte folgende Methode zur Anwendung:

Es wurden Blätter der Versuchspflanzen unter Wasser abgeschnitten und in kleine Kolben, die nicht bis in den stark verengten Hals mit Wasser gefüllt waren, eingesetzt. Vor dem Einsetzen wurden die Blattstiele mit einem scharfen Rasiermesser nochmals schräg abgeschnitten. Die Kolben mit den Blättern wurden auf einer analytischen Waage (Empfindlichkeit 0.1 mg) gewogen. Die ermittelten Transpirationsverluste wurden auf gleiche Flächen und gleiche Zeiten umgerechnet. Nach jedem Versuch wurden die Blätter auf photographisches Papier kopiert und ihre Fläche planimetrisch bestimmt. Abgeschnittene Blätter vom Rotklee wie auch von den andern ausnahmsweise benutzten Pflanzen blieben, wenn alle Vorsichtsmaßregeln getroffen waren, insbesondere die Verstopfung der Gefäße mit Luft vermieden war, selbst über eine Woche hinaus frisch. Die auf gleiche Zeiten (12 Stunden) bezogenen Transpirationswerte schwankten naturgemäß bei länger dauernden Versuchen gemäß den äußeren Bedingungen, die konstant zu halten uns aus materiellen Gründen versagt war, wie Temperatur, Luftfeuchtigkeit, Licht und Anteil von Tag und Nacht an den Perioden zwischen zwei Wägungen. Darauf, daß absolut richtige Transpirationswerte für längere Perioden, z. B. 12 Stunden, nicht aus in kürzeren Zeiträumen gemessenen Werten errechnet werden können, macht Seybold (1929) aufmerksam. Da absolute Werte zu erhalten nicht unsere Absicht war, schien trotz dieses Umstandes uns der Bezug auf gleiche Zeiten zur besseren Übersichtlichkeit der Zahlen ratsam. Ein Abfall der Transpiration, wie er von Burgerstein (1904) beobachtet wurde, war gegen Ende auch mehrtägiger Versuche nicht regelmäßig zu beobachten. Mittmeier (1931), die bei ihren Untersuchungen sich der gleichen Methode bediente, fand für die allerdings kurze Zeit von zwei Stunden ebenfalls kein Sinken der Wasserabgabe. Neger und Lakon (1914) nehmen mit Burgerstein eine verringerte Transpiration abgeschnittener und in Wasser stehender Pflanzenteile an. Nach Seybold dagegen „sind die ermittelten Werte, die mit abgeschnittenen Sprossen erhalten wurden, nicht herabgesetzt, zumal ein durch Wassermangel verminderter Wasserstrom zu den Transpirationssystemen kaum vorhanden sein dürfte“ (1929, S. 75).

Da es bei dieser Methode darauf ankommt, den Wasserverlust bei ungehemmter Wasserzufuhr zu bestimmen, muß sorgfältig jede Erschwerung der Wasseraufnahme vermieden werden. Bekanntlich werden bei Temperaturveränderung aus dem benutzten Leitungswasser, welches Gase gelöst enthält, diese in Form kleiner Bläschen entbunden; setzen sich, was häufig vorkommt, solche Bläschen an der Schnittfläche an, so hemmen sie den Zutritt des Wassers zu den Gefäßen und können geschwächte Transpiration oder Welken herbeiführen. Der Einsaugung in die Gefäße wird durch die Oberflächenspannung der Luftbläschen ein hoher Widerstand entgegengesetzt, sobald ihr Durchmesser den der Gefäße übertrifft.

Die beiden hier besprochenen Methoden der Transpirationsbestimmung haben für den Zweck dieser Untersuchung ihre Vor- und Nachteile. Der Vorzug der Transpirationsbestimmung an ausgestanzten Blattstückchen besteht 1. darin, daß gleiche Blattflächen untersucht und die erhaltenen Ergebnisse unmittelbar miteinander verglichen werden können, 2. in der Möglichkeit, die Wassergabe in kurzen Zeiträumen zu verfolgen und die Wirkung eines zu untersuchenden Faktors in ihren einzelnen Phasen zu

beobachten und 3. korrespondierende Stücke eines Blattes miteinander zu vergleichen und so die bei vergleichenden Versuchen sehr störenden individuellen Unterschiede in der Transpirationsintensität auszuschalten. Nachteilig dagegen ist die zunehmende Austrocknung der Objekte und die dadurch bedingte Beschränkung der Beobachtungszeit sowie der Einfluß der Wundränder auf die ermittelte Wasserabgabe.

Die zweite Methode, die Wasserverlustbestimmung an intakten in Wasser stehenden Blättern erlaubt Versuche längerer Dauer. Weiter schafft sie für den Klee zweifellos natürlichere Bedingungen, wobei gerne zugegeben sein mag, daß die Argumentation von Schratz, der ungehemmte Wasserzufuhr bei seinen Wüstenpflanzen als abnorm ansieht, für seine Objekte und Fragestellung zu Recht besteht. Dafür zwingt aber diese Methode, da wohl nie flächengleiche Blätter als Versuchsobjekte zur Verfügung stehen, zur Umrechnung der Ergebnisse auf Flächengleichheit oder ein anderes Bezugssystem. Bei den Versuchen über die Wirkung der schwefligen Säure auf die Transpiration wurde diese stets auf gleiche Blattflächen bezogen. Für die Wahl dieses Bezugssystems war entscheidend, daß es sich um die Untersuchung des Einflusses eines auf die Blattoberflächen wirkenden Faktors handelte. Ein besonderer Nachteil der Methode besteht zweifellos in der ungleichen Transpirationsintensität verschiedener Blätter.

3. Voraussetzungen für vergleichende Transpirationsmessungen.

Für vergleichende Transpirationsmessungen ist selbstverständlich genaue Übereinstimmung der Außenbedingungen Voraussetzung. Müssen die zu vergleichenden Pflanzen in verschiedenen Rezipienten, wie es bei unseren Versuchen der Fall war, untergebracht werden, so entsteht bereits die erste Schwierigkeit: Die in unseren Versuchen benutzten Glasglocken, in welchen sich die Pflanzen befanden, wurden möglichst nahe nebeneinander in gleicher Richtung zum Licht aufgestellt, so daß hinsichtlich Temperatur und Licht die Forderung gleicher Bedingungen erfüllt war. Weit schwieriger dagegen war es, die Luftfeuchtigkeit für beide Gefäße gleich zu gestalten. Transpirationsunterschiede der beiden Pflanzengruppen, wie sie durch Blattflächenunterschiede oder aber durch Einfluß des untersuchten Faktors (Gas) entstehen, müssen bei dem relativ kleinen Volumen der Gefäße die in ihnen herrschenden Dampfdruckverhältnisse beeinflussen. Als Ausweg aus diesen Schwierigkeiten bot sich die Entfernung aller durch die Transpiration entstehenden Feuchtigkeit durch wasserentziehende Mittel. Als solche wurden Chlorkalzium und Schwefelsäure benutzt. Chlorkalzium erwies sich als ungeeignet, da keines der bezogenen Präparate geruchfrei war und die entlassenen Gase die Versuche auf alle Fälle stark stören konnten. Deshalb wurde reinste konzentrierte Schwefelsäure zum Wasserentzug benutzt. Um in den beiden Glasglocken immer gleiche Mengen

Schwefelsäure gleicher Konzentration zu haben, wurde die Schwefelsäure vor jedem Versuch aus beiden Glocken in ein Gefäß zusammen gegossen, gründlich gemischt und dann neu verteilt.

Die relative Luftfeuchtigkeit eines Raumes läßt sich, abgesehen von der direkten Bestimmung der Wasserdampfmengen durch Feststellung des Taupunktes, mit Hilfe des Psychrometers aus der Verdampfungswärme und schließlich mit dem Haarhygrometer bestimmen. Von diesen Methoden erwiesen sich die beiden ersten für unsere speziellen Versuchsbedingungen als unanwendbar, da bei diesen durch die Messung selbst die Luftfeuchtigkeit verändert wird. Beim Goldreifhygrometer wird sie herabgesetzt, bei der Messung mit dem Psychrometer erhöht. Es bleibt nur die Bestimmung mit dem Haarhygrometer. Dieser Methode haftet aber eine große Schwierigkeit an: Es werden zur dauernden Kontrolle des Dampfdruckes in den beiden Gefäßen zwei Instrumente benötigt. Es ist aber sehr schwierig, zwei Hygrometer gleicher Empfindlichkeit und Reaktionsweise zu finden. Die verschiedenen benützten Instrumente zeigten sowohl verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit als auch unterschiedliches Verhalten in den verschiedenen Meßbereichen. Zwei geeichte nebeneinander im gleichen Raum aufgestellte Hygrometer wurden längere Zeit beobachtet. Dabei ergab sich, daß bei nur geringen und langsamen Schwankungen der Luftfeuchtigkeit des Raumes die Angaben ziemlich gut übereinstimmten; änderte der Dampfdruck sich aber stärker oder plötzlicher, wie es in Räumen mit nicht konstanter Temperatur häufig der Fall ist, so zeigten sich sofort relativ große Unterschiede [1]). Dieser Umstand erschwerte die Kontrolle des Wasserdampfdruckes in beiden Versuchsgefäßen sehr.

Eine weitere Voraussetzung für vergleichende Transpirationsversuche ist wirkliche Vergleichbarkeit der Objekte, d. h. daß diese unter gleichen Bedingungen im Verhältnis ihrer Größe auch gleich stark transpirieren. Es muß aber die Transpirationsgröße ebenso variabel sein wie alle jene anatomischen und physiologischen Merkmale, welche diese Funktion beeinflussen. Besonders große Unterschiede in der Transpirationsintensität sind naturgemäß zwischen verschiedenen Pflanzen einer Art zu erwarten, da hier neben der Modifikabilität auch die genotypische Variabilität in Erscheinung tritt.

Über die tatsächliche große Verschiedenartigkeit der Pflanzen einer Art nach ihrem Transpirationsvermögen finden sich in der Literatur zahlreiche Angaben. Wieler (1905) und Neger (1914) haben besonders auf die Bedeutung dieser Tatsache für vergleichende Transpirationsmessungen aufmerksam gemacht. Kamp (1930) fand große Unterschiede in der Wasserabgabe verschiedener Blätter derselben Art bei *Acer platanoides, Quercus rubra* und *Lysimachia vulgaris* und führt dieselben auf anatomische Verschiedenheiten und „physiologische Stimmungen“ zurück. Auch von Seybold (1929) wird die große Bedeutung betont, welche der individuellen Konstitution für die Intensität der Wasserabgabe der Einzelpflanze zukommt. Dagegen hält Stocker (1931) die individuelle Variabilität in der Transpirationsfähigkeit für nicht sehr groß.

In unseren Versuchen zeigten allgemein verschiedene Pflanzen derselben Art unter gleichen Bedingungen in der flächenrelativen Wasserabgabe große Unterschiede. So verloren drei aus den Rotkleepflanzen B 11,

---

[1]) Eine bessere Übereinstimmung verschiedener Haarhygrometer fanden Stern, Bünning und Wolodkewitsch (1930). In ihren Versuchen betrug der Fehler nur 1—2 %.

B 12 und I 13 ausgestanzte Blattstücke in sechs Minuten 0,35 mg, 0,37 mg und 0,60 mg Wasser. Wird der Wasserverlust des ersten Blattfragmentes (B 11) gleich 100 gesetzt und derjenige der andern Blattstücke prozentual ausgedrückt, so ergibt sich das Verhältnis 100 : 106 : 171. Wie hieraus hervorgeht, ist der Wasserverlust von B 11 und B 12 nicht sehr verschieden: I 13 verlor dagegen gleichzeitig fast die doppelte Wassermenge. B 11 und B 12 entstammten einer böhmischen, I 13 einer italienischen Kleeherkunft. Ein allgemeiner Unterschied zwischen diesen beiden Sorten, den man aus diesem Versuche herauszulesen versucht sein könnte, besteht aber, wie andere Versuche zeigten, nicht. So ergab sich aus den an drei Blattstücken in 16 Minuten gemessenen Wasserverlusten ein Transpirationsverhältnis I 14 : I 15 : B 2 = 100 : 142 : 99,5 und in einem andern Falle bei einer Meßdauer von 24 Minuten B 2 : I 16 : I 11 = 100 : 91 : 109. Ein allgemeiner Unterschied zwischen diesen beiden Herkünften ist auch unwahrscheinlich, da diese genetisch nicht reine Linien, sondern komplizierte Gemische darstellen. Die Transpirationsunterschiede können unter Umständen außerordentlich groß sein; nicht selten wurden Verhältnisse wie 1 : 2 oder 1 : 3 gefunden. Besonders eine Pflanze, S 15, fiel ihrer geringen Transpirationsintensität wegen in allen mit ihr angestellten Versuchen auf. Nimmt man den Transpirationswert von S 15 gleich 100, dann ergeben sich für fünf verschiedene, gleichzeitig geprüfte Pflanzen folgende Vergleichswerte: 344, 121, 118, 319 und 363. Da die angegebenen Zahlen aus mehreren Versuchen an jeweils verschiedenen Blättern gewonnen wurden, ergibt sich, daß die geringe Intensität der Wasserabgabe eine individuelle Eigenschaft der genannten Pflanze ist.

Nicht nur in der Transpirationsintensität an sich können sich Pflanzen derselben Art voneinander unterscheiden, sondern auch in dem Grade und der Geschwindigkeit der Transpirationsänderung, durch welche die Pflanze auf Veränderung von Außenfaktoren reagiert. Hierfür sei als Beispiel ein Versuch angeführt, in dem die Transpiration von in Wasser stehenden Blättern der Pflanzen S 15 und S 6 verglichen wurde. In der ersten Versuchsperiode befanden sich die Objekte 22 Stunden lang im Gewächshaus in relativ feuchter Luft; aus den auf gleiche Flächen umgerechneten Wasserverlusten ergab sich für S 6 der Vergleichswert[1] 84. Die Blätter von S 6 transpirierten also schwächer als die von S 15. In der zweiten Versuchsperiode von 24 Stunden Dauer standen die Blätter in der durch Schwefelsäure trocken gehaltenen Luft der für die Begasungsversuche benutzten Rezipienten; hier wurde bei absolut höheren Transpirationswerten das Verhältnis S 15 : S 6 = 100 : 137 gefunden, das eine höhere Transpiration der Pflanze S 6 anzeigt. Demnach ist durch die Vergrößerung des Dampfdruckpotentials die Wasserabgabe von S 6 stärker als die von S 15 gesteigert

[1]) Unter Vergleichs- oder Verhältniswert sei hier die Wasserabgabe eines Objektes, ausgedrückt in Prozenten des Wasserverlustes des Vergleichsobjektes, verstanden.

worden. Da auch die Reaktionsnormen einer Pflanze als erblich bedingt angesehen werden dürfen, erhellt hieraus die Notwendigkeit, zu vergleichenden Transpirationsversuchen genetisch einheitliches Material zu verwenden.

Aber auch bei Objekten von gleicher erblicher Konstitution, bei Individuen einer reinen Linie oder eines Klons oder bei verschiedenen Blättern eines Individuums ist noch eine bestimmte Variabilität in der Transpirationskraft zu erwarten. Die Variationsbreite ist naturgemäß bestimmt durch den Grad der Modifizierbarkeit derjenigen Eigenschaften, welche die Transpirationshöhe bestimmen. Als solche modifizierenden Faktoren haben bei Blättern eines Individuums Unterschiede im Licht- und Temperaturgenuß, in der Luftfeuchtigkeit, in der Entwicklungsgeschichte und im Alterszustand zu gelten. Besonders der Einfluß des letzten Faktors auf die Transpirationshöhe ist vielfach untersucht worden.

Die Resultate der älteren Arbeiten sind von Burgerstein zusammengestellt und behaupten ziemlich eindeutig eine stärkere Transpiration der jüngeren Blätter. Von Burgerstein selbst (1904) würde die Wasserabgabe von je drei Blättern von *Ampelopsis quinquefolia* und *Aesculus Hippocastanum* miteinander verglichen. Bei *Ampelopsis* transpirierte das jüngste Blatt am stärksten, das ältere jedoch stärker als das mittlere; bei *Aesculus* dagegen zeigte das älteste die größte flächenrelative wie auch gewichtsbezogene Wasserabgabe; das jüngste Blatt verlor die kleinsten Wassermengen. Bei *Echeveria glauca* und *Aloe verrucosa* fand Burgerstein stärkere Transpiration der jüngeren Blätter. In Versuchen von Neger (1914) hatten die zweijährigen Nadeln bzw. Blätter von Fichte, Tanne, Eibe, Kiefer und *Ilex aquifolium* allgemein einen größeren auf den Wassergehalt bezogenen Transpirationsverlust als die älteren Objekte. In neuester Zeit untersuchten Kamp (1930) und Mittmeyer (1931) die Frage der Altersabhängigkeit der Transpiration. Kamp fand bei *Hedera helix* bei sehr geringen absoluten Werten kleinere Gesamttranspiration und größere kutikuläre Wasserabgabe bei den jüngeren Blättern, dagegen war letztere bei einigen Hartlaubgewächsen bei den älteren Blättern größer. Bei *Elatostemma sessile*, *Coffea arabica* und *Coffea robusta* nahm die Gesamttranspiration mit steigendem Alter ab, die kutikuläre zu. Von Interesse sind noch Kamps Untersuchungen über den Einfluß des „incipient drying“ auf die kutikuläre Wasserabgabe junger und alter Blätter. In Versuchen mit *Quercus ilex* und *Elatostema sessile* war der Abfall der kutikulären Transpiration bei den älteren Blättern zunächst stärker als bei den jungen, hielt aber bei den letzteren länger an. Kamp selbst sagt hierüber: „Der Endzustand einer ungefähr gleichbleibenden Transpiration wird bei den jungen Blättern später erreicht als bei den älteren.“ (S. 453.) Den Grund für die größere kutikuläre Transpiration der alten Blätter sieht Kamp in einer „gewissen Verwitterung oder allmählichen Auslaugung“ der alternden Kutikula. Zu denselben Ergebnissen wie Kamp, stärkere Gesamttranspiration jüngerer, stärkere kutikuläre Transpiration älterer Blätter gelangte auch G. Mittmeyer. Sie fand für Rhododendron stärkere Gesamttranspiration bei den alten Blättern, bei *Hedera* nicht so deutliche Unterschiede. Die kutikuläre Transpiration dagegen war sowohl bei Rhododendron wie auch bei *Hedera* bei älteren Blättern größer. Hierin sieht G. Mittmeyer eine „physiologische Alterserscheinung“ des Blattes. Auch Seybold (1929) nimmt eine stärkere Transpiration der jüngeren Blätter an. Er sagt wörtlich: „Der qualitative Entscheid, daß die jüngeren Blätter kräftiger transpirieren, darf als gesichert angesehen werden.“ (S. 133.)

In unseren Versuchen ließ sich die Altersabhängigkeit der Blatttranspiration besonders klar an Callisia zeigen. Diese Pflanze besitzt als

Versuchsobjekt für diese Frage den großen Vorzug, daß die Altersfolge der Blätter einwandfrei zu erkennen ist und stets eine große Anzahl gleich gut entwickelter Blätter verschiedenen Alters vorhanden sind. Der Vergleich der Wasserverluste von flächengleichen Blattstücken, die aus ungleich alten Blättern eines Callisia-Sproßes ausgestanzt waren, ergab allgemein eine höhere Transpiration der älteren Objekte. In einem solchen Versuche verloren die Blattstücke in 48 Minuten folgende Wassermengen in Milligramm: 2,48 (1.), 2,89 (2.), 3,67 (5.), 4,31 (7), 4,15 (9.) und 4,95 (10). Die eingeklammerten Ziffern bezeichnen die Blattfolge. Als erstes Blatt wurde das jüngste vollständig entwickelte Blatt am Sproßgipfel bezeichnet. Die höheren Ziffern der folgenden Blätter bedeuten demnach ein höheres Alter. Wird die Wasserverlustgröße jedes Blattstückes in Prozenten der Wasserabgabe des ältesten Objektes ausgedrückt, so ergibt sich folgende mit dem Wert des jüngsten Blattes beginnende Reihe: 50, 58, 74, 87, 84, 100. Es entspricht also höherem Blattalter ziemlich genau eine höhere Transpirationsintensität. Die Beziehung zwischen Alter und Wasserabgabe erscheint am deutlichsten bei den jüngeren Blättern, um mit steigendem Alter sich zu verwischen. Mit den Ergebnissen des angeführten Versuches stimmen die aller anderen genau überein; die Angabe ihrer Resultate im einzelnen verbietet sich leider aus Gründen der Raumersparnis.

Es besteht nun die Möglichkeit, daß der Grund der größeren Transpiration der älteren Blätter ein höherer Wassergehalt sei. Zur Klärung dieser Frage wurde der Wassergehalt der einzelnen aufeinander folgenden Blätter eines Callisia-Sproßes bestimmt. Zu diesem Zweck wurden mittels eines Korkbohrers kreisrunde Blattstückchen von 153,8 qmm Flächengröße ausgestanzt und ihr Trockengewicht ermittelt. Die Resultate zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3.

Blattfolge	Frischgewicht mg	Trockengewicht mg	Wassergehalt pro Fläche mg	Wassergehalt in % des Frischgewichtes
1	52,3	2,7	49,6	94,8
2	55,7	3,1	52,6	94,4
3	50,6	3,2	47,5	93,9
4	55,1	3,4	51,7	93,8
5	52,9	3,9	49,0	92,6
6	56,9	3,8	53,1	93,3
7	60,2	4,0	56,2	93,3
8	57,1	4,1	53,0	92,8

Es nimmt also das Trockengewicht eindeutig mit höherem Blattalter zu; der auf das Frischgewicht bezogene Wassergehalt ist bei im ganzen geringen Unterschieden bei den älteren Blättern etwas niedriger. Im Wassergehalt gleicher Flächen zeigen sich keine eindeutigen Unterschiede.

Die größere Transpiration der älteren Blätter ist also nicht Folge eines höheren Wassergehaltes; ihre Ursache ist vielmehr in einer größeren Wasserdurchlässigkeit der Blattmembranen der älteren Objekte zu suchen. Denn es besteht die Wahrscheinlichkeit, daß bei unserer Methode (Wägung ausgestanzter Blattstückchen) vornehmlich die kutikuläre Transpiration erfaßt ist, da wegen der fehlenden Wasserzufuhr mit einem mehr oder weniger vollständigen Schluß der Stomata zu rechnen ist.

Eine ähnliche Beziehung zwischen Blattalter und Transpiration scheint nach den Resultaten unserer Versuche auch beim Rotklee zu bestehen. So ergab sich in einem Versuche mit Blattstücken aus fünf ungleich alten Blättern einer Pflanze, wenn die Transpiration des ältesten Blattes gleich 100 gesetzt und die der übrigen prozentual ausgedrückt wurde, folgende mit dem Wert des jüngsten Objektes beginnende Reihe: 57, 84, 88, 95, 100; und in einem andern Falle: 51, 69, 82, 107, 100. Auch hier transpirierten die jüngeren Blätter weniger als die älteren. Doch nicht alle Versuche brachten ein so klares Ergebnis. Dies erklärt sich aus den Schwierigkeiten, welche der Klee als Versuchspflanze für diese Untersuchung bietet. Zunächst ist das relative Blattalter nur an jeweils einem Triebe sicher zu erkennen; ein Trieb trägt aber meist nur wenige intakte Blätter. Eine weitere Schwierigkeit ist durch die Wuchsform des Klees bedingt. Der Einfluß des Alters auf die Transpiration ist nur dann sicher zu bestimmen, wenn die miteinander verglichenen Blätter unter sonst gleichen Bedingungen standen, gleichen Lichtgenuß, gleiche Stiellängen usw. hatten. Dies ist beim Klee jedoch häufig nicht der Fall. Einigermaßen klare Ergebnisse erhält man beim Vergleich der Transpiration gesunder Blätter mit weitem Altersabstand.

Der Grund für den Widerspruch, in dem unsere Resultate zu denen anderer Autoren (Burgerstein, Kamp, Mittmeyer) stehen, ist zunächst in der Verschiedenartigkeit der Objekte zu suchen, vielleicht aber auch darin, daß in unsern Versuchen die Altersunterschiede relativ gering waren. Auch ließe sich die größere Wasserabgabe der älteren Blätter für den Klee aus dem sicher hohen Anteil der kutikulären an der Gesamttranspiration bei diesem ausgesprochenen Mesophyten und unter den Verhältnissen des Versuchs (Spaltenschluß bei den austrocknenden Blattfragmenten) verstehen, wenn man auch für den Klee die Befunde von Kamp und Mittmeyer als gültig ansieht. Auf den möglichen Wechsel des Verhältnisses von kutikulärer zu stomatärer Transpiration in verschiedenen Altersstadien weist Seybold (1929) hin. Da das Blattalter nur einer der die Blattstruktur und damit auch die Transpirationshöhe modifizierenden Faktoren ist, erklärt sich leicht, daß nicht immer sichere und eindeutige Beziehungen zwischen Wasserabgabe und Blattalter gefunden werden, und zweitens, daß auch gleichalte Objekte sich nach ihrem Transpirationsvermögen unterscheiden können.

Bei Transpirationsmessungen an ausgestanzten Blattstückchen ergaben sich selbst Unterschiede in der flächenrelativen Wasserabgabe, wenn die ausgestanzten Fragmente dem gleichen Blatte entnommen waren. So verloren in einem Versuche drei Blattstücke, die aus je einer Fieder desselben Rotkleeblattes ausgestanzt waren, in 68 Minuten 3,03, 3,23 und 3,23 mg Wasser. Drei der gleichen Fieder entstammende Blattstücke verloren unter identischen Bedingungen und in gleichen Zeiten 1,60, 1,15

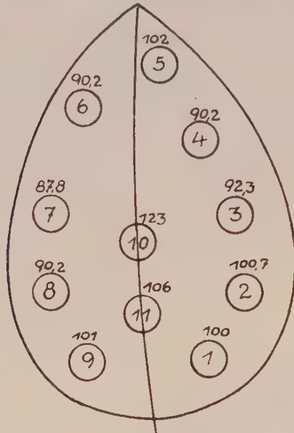


Abb. 4.

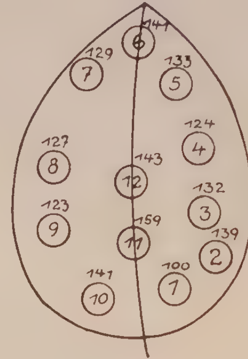


Abb. 5.

und 1,16 mg, drei andere ebenfalls einer Fieder entstammende Objekte 1,46, 1,42 und 1,59 mg.

Zum Studium der Frage, ob die Transpirationsintensität eines Blattes auch topographisch bedingt ist, wurde folgender Versuch in mehrmaliger Wiederholung gemacht. Aus einer großen Fieder eines Kleeblattes wurden zahlreiche Stückchen an über die ganze Fieder verteilten Stellen ausgestanzt und ihr Wasserverlust für eine gewisse Zeit an der Torsionswaage bestimmt. In der Skizze der Fieder (Abb. 4) ist für jedes Blattstückchen seine Lage und daneben sein aus der in 78 Minuten abgegebenen Wassermenge des Blattfragmentes errechnete Verhältniswert ist gleich 100 gesetzt. Naturgemäß ist der Wasserverlust solcher Blattstückchen, die Teile des Hauptnerven enthalten, besonders groß; der im Vergleich mit dem Werte des Fragmentes 10 auffällig geringe Wasserverlust des Stückes 11 erklärt sich wohl daher, daß 10 früher als 11 ausgestanzt war und durch das Ausstanzen von 10 den anschließenden Blattpartien Wasser entzogen war. Im übrigen scheint die Transpirationsintensität auf dem unteren Blattteile am stärksten zu sein und zur Spitze hin abzunehmen. Weitere Versuche dieser Art (Abb. 5) zeigten ebenfalls große Unterschiede in der Transpirationsintensität an den verschiedenen Stellen eines Blattes; dagegen war es nicht möglich, allgemeine Zonen schwächerer oder stärkerer Transpiration festzulegen. Die ungleiche Transpiration verschiedener flächen-

gleicher Stücke eines Blattes erklärt sich leicht aus Verschiedenheiten im Bau (Zahl und Größe der Gefäße) und im Wassergehalt; ein weiterer Grund könnte in der Möglichkeit ungleicher Temperatur an den verschiedenen Stellen des Blattes im Sinne Seybolds (1929) gesehen werden.

Für vergleichende Transpirationsuntersuchungen ergibt sich demnach die Forderung, daß, um die Wirkung eines dritten Faktors, dem eines der Vergleichsobjekte ausgesetzt werden soll, kennen zu lernen, die zu vergleichenden Blätter von einer Pflanze stammen, gleich alt sein und bei ausgestanzten Blattstückchen diese demselben Blatte an korrespondierenden Stellen entnommen werden müssen. Da aber selbst dann völlige Übereinstimmung und damit wirkliche Vergleichbarkeit der gefundenen Werte nicht erzielt werden kann, scheint sich der einzige Ausweg zu zeigen, die Objekte zunächst unter identischen Bedingungen (im Vorversuch) zu untersuchen und so ihr „normales" Transpirationsverhältnis festzustellen und dann die Wirkung des zu untersuchenden Faktors aus der Veränderung des ursprünglichen Verhältnisses zu erschließen. Zur Darstellung dieses Verhältnisses wurde die Transpiration des begasten Blattes in Prozenten der Wasserabgabe des Vergleichsobjektes ausgedrückt und dieser Wert als Verhältniswert bezeichnet. Voraussetzung für die Richtigkeit des Schlusses von der Veränderung des relativen Verhältniswertes auf den Einfluß des einwirkenden Faktors ist aber, daß ein einmal festgestelltes Transpirationsverhältnis bei gleichen Bedingungen für beide Objekte eines Vergleichspaares auch erhalten bleibt. Neger und Lakon (1914), die bei ihren Versuchen über den Einfluß der schwefligen Säure auf die Transpiration eine im Prinzip ähnliche Methode benutzten, sagen über die Konstanz des Verhältnisses, daß sich nach einiger Zeit ein Gleichgewichtszustand einstelle „derart, daß z. B. Wasserabgabe bzw. Wasseraufnahme in einem mehr oder weniger konstanten Verhältnis zueinander stehen, etwa im Verhältnis 1:2 oder 2:3 oder 6:7 usw." (S. 205). Diese beiden Autoren nehmen demnach eine Konstanz des Transpirationsverhältnisses an. Nach unseren Beobachtungen ist hingegen mit einigem Schwanken dieses Verhältnisses auch unter gleichen Bedingungen und trotz genotypischer Übereinstimmung beider Pflanzen eines Vergleichspaares zu rechnen, vielleicht nur deshalb, weil es uns nicht möglich war, die Versuche unter konstanten Außenbedingungen durchzuführen und Ausmaß und Geschwindigkeit der Reaktion bei dem Wechsel irgend eines Außenfaktors für jedes Objekt Besonderheiten aufweist. Die Variationsbreite des Verhältniswertes eines Vergleichspaares eindeutig zu bestimmen, ist nur unter ganz eindeutigen Außenbedingungen möglich. So muß der in der Inkonstanz des Verhältniswertes liegende Fehler leider mit in Kauf genommen werden.

III. Versuche über den Einfluß der schwefligen Säure auf die Transpiration.

1. Methode.

a) Versuche mit ausgestanzten Blattstückchen.

Zur Untersuchung des Einflusses der schwefligen Säure auf die Transpiration wurden je zwei Blattstückchen an entsprechenden Stellen aus derselben Fieder eines Rotkleeblattes – rechts und links vom Mittelnerv in gleicher Höhe und gleicher Entfernung vom Blattrande — ausgestanzt, von denen das eine schwefliger Säure ausgesetzt wurde, das andere zum Vergleiche diente.

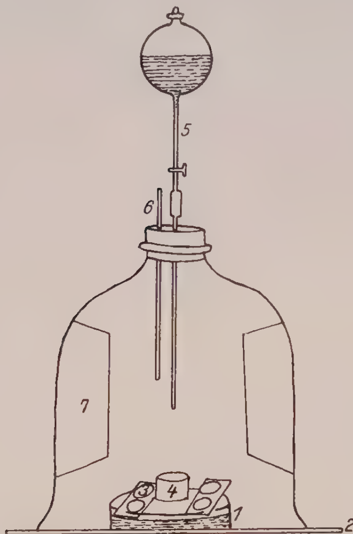


Abb. 6.
Begasungsrezipient.

1. Glasplatte mit H_2SO_4.
2. Glasplatte.
3. Uhrschälchen zur Aufnahme der Blattstückchen.
4. H_2SO_4-Gefäß zur SO_2-Entwicklung.
5. Tropftrichter mit Natriumsulfit.
6. Thermometer.
7. Cellonflügel.

Die Begasung erfolgte unter einer 800 ccm fassenden Glasglocke, in welcher das Schwefeldioxyd aus Natriumsulfit und Schwefelsäure entwickelt wurde. Unter dieser Glasglocke befanden sich die zu untersuchenden Blattstückchen zwischen den Wägungen; die Vergleichsstückchen wurden gleichzeitig unter eine gleich große, kein SO_2 enthaltende, sonst aber völlig gleiche Glocke gebracht. In beiden Glocken befanden sich gleich große flache Glasschalen mit konzentrierter Schwefelsäure, um gleiche Luftfeuchtigkeitsverhältnisse in beiden Glocken zu schaffen. Über die Glasschalen mit Schwefelsäure wurden Glasstreifen gelegt; auf diesen waren Uhrschälchen zur Aufnahme der Blattstückchen angebracht. Außerdem stand in jeder Glocke auf der Glasplatte noch ein kleines zweites Gefäß mit Schwefelsäure; in der SO_2-Glocke diente dieses zur Entwicklung des Schwefeldioxyds, in der Vergleichsglocke zur Herstellung übereinstimmender Verhältnisse. Der den Glockentubus verschließende Gummistopfen besaß zwei Bohrungen, durch welche das Thermometer und der Sulfittrichter in den Rezipienten hineinragten. Dieser letztere trägt vier ins Innere ragende Cellonflügel, welche bei Schwenkung des Rezipienten eine rasche Durchmischung des gasförmigen Inhalts besorgten.

b) Versuche mit in Wasser stehenden Blättern.

Aus den mit ausgestanzten Blattstückchen ausgeführten vergleichenden Transpirationsmessungen kann nur die Wirkung relativ hoher SO_2-Konzentrationen erschlossen werden, da diese Methode nur eine begrenzte Versuchsdauer zuläßt. Wie kleinere Gasmengen in den Transpirationsablauf eingreifen, läßt sich aber nur bei längerer Einwirkung des Schwefeldioxyds feststellen. Zu diesem Zwecke mußte einmal den Pflanzenteilen die Wasseraufnahme möglich gemacht werden. Weiterhin war eine Versuchsanordnung erforderlich, die eine bessere Dosierung der schwefligen

Säure erlaubte. Deshalb wurde zu der S. 447 beschriebenen Methode der Transpirationsbestimmung übergegangen.

Die Versuchsblätter wurden unter Wasser abgeschnitten und mittels eng durchbohrter Korken in mit Wasser gefüllte Gläschen eingesetzt. Zwei möglichst gleich alte Blätter derselben Pflanze bildeten ein Vergleichspaar, von dem das eine begast wurde, während das andere unbegast blieb.

Die Rezipienten, welche zirka 6000 ccm faßten, bestanden aus je einem Exsikkator mit seitlichem Tubus, dem eine tubulierte Glasglocke mit geschliffenem Rande aufgesetzt wurde. Durch den seitlichen Tubus des Begasungsrezipienten (kurz u-Rezipient genannt) führte die Spitze einer Leitung aus Kapillarrohr, die zu einer mit SO_2 gefüllten Gasbürette führte. Das Schwefeldioxyd wurde in kleinen Mengen einer Stahlbombe entnommen

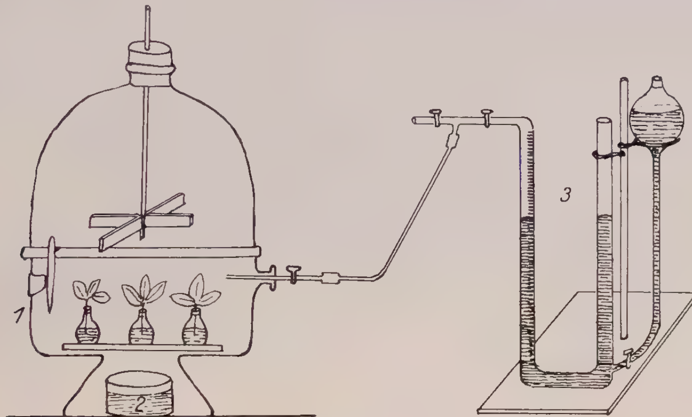


Abb. 7.
Begasungsrezipient.
1 Rezipient. 2 Gefäß mit H_2SO_4. 3 Gasbürette.

und in die Gasbürette gefüllt. Als Sperrflüssigkeit diente Quecksilber. In der Bürette ließ sich durch Einsaugen abgemessener Luftmengen jeder gewünschte Verdünnungsgrad herstellen. Die Füllung der Bürette geschah stets längere Zeit vor jedem Versuche, damit eine gleichmäßige Durchmischung der Gase in der Bürette gewährleistet war. Zur Begasung wurde eine abgemessene Menge des Gasgemisches von bekanntem SO_2-Gehalt unter schwachem Druck in den Rezipienten geleitet. Durch dessen oberen Tubus ragte durch eine Durchbohrung des Korkens ein Glasstab, dem an seinem unteren Ende vier Glasflügel angeschmolzen waren. Dieser wurde nach Einleitung des Gases einige Zeit gedreht, um eine gleichmäßige Verteilung der schwefligen Säure zu erzielen. Die Zuleitung von der Bürette zum Rezipienten bestand aus Kapillarrohren, die durch kurze Stücke Druckschlauch miteinander verbunden waren. Da im Laufe der Untersuchungen sich herausstellte, daß Gummi für SO_2 sehr permeabel ist und deshalb mit einem Entweichen von Gas durch diese Verbindungsstücke zu rechnen war, wurde vor jedem Versuch zunächst soviel Gasgemisch entfernt als dem Volumen der Zuleitung, dem „toten Raum" entsprach. Dieses Volumen, dem aller Raum oberhalb des letzten Teilstriches der Bürettenteilung bis zum Ende des Einleitungsrohres in den Rezipienten zugerechnet wurde, ließ sich so bestimmen, daß die ganze Bürette mit Wasser vollständig gefüllt wurde; dann ließ man aus dem Zuleitungsrohr soviel Wasser abfließen, daß die Bürette bis zum obersten Teilstrich noch gefüllt war. Die Menge des ausgeflossenen Wassers ergab die Größe des toten Raumes. An einem Eudiometer wurde eine Marke so angebracht, daß der oberhalb der Marke befindliche Raum das ermittelte Volumen besaß. So brauchte vor jeder Begasung nur aus der Bürette das Eudiometer

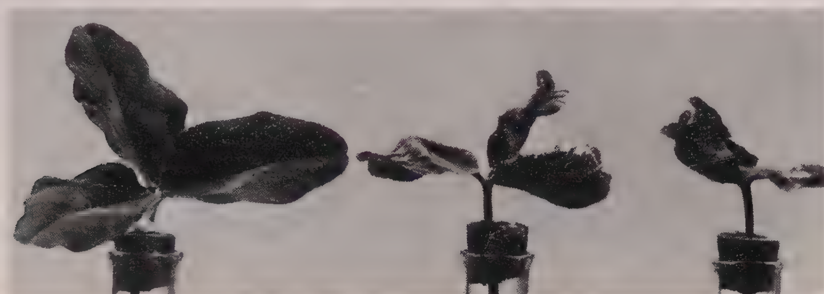
mit dem Gase gefüllt zu werden, um sicher zu sein, daß jetzt das Gasgemisch in der Zuleitung und in der Bürette identisch war. Kurz nach der Begasung war sicher die berechnete SO_2-Konzentration im Rezipienten vorhanden. Für die Beibehaltung des ursprünglichen Gehaltes bestand aber keine Gewähr, vielmehr mußte mit einem allmählichen Sinken der Konzentration im Versuchsgefäß gerechnet werden. Gründe hierfür wären SO_2-Aufnahme durch die Blattflächen, Adsorption an den Wandungen der Zuleitung und des Rezipienten und Oxydation der schwefligen Säure zu Schwefelsäure. Eine allmähliche Abnahme des SO_2-Gehaltes ist auch von Döpp (1931) angegeben, der Begasungsversuche mit schwefliger Säure anstellte. Die Konzentrationsabnahme sollte umso bedeutender sein, je größer die innere Oberfläche relativ zum Luftinhalt eines Raumes sei. Deshalb stellt Döpp für diese Versuchsanordnung die Forderung auf, daß der Versuchsraum möglichst groß im Verhältnis zu den Objekten und die Versuche von nicht zu langer Dauer sein sollten. Letztere betrug in Döpps eigenen Versuchen bis zu zwei Stunden. Da für unsere Untersuchungen die Wahl einer anderen Begasungsart, bei der für die ganze Versuchsdauer eine konstante SO_2-Konzentration gesichert war (z. B. Durchströmen eines SO_2-Luftgemisches von konstantem Gehalt durch die Apparatur), nicht möglich war, mußte der Nachteil des allmählichen Sinkens der Konzentration in Kauf genommen werden. Dieser Umstand ist bei der Beurteilung der Wirkung der angegebenen Gasmengen in Versuchen von längerer Dauer zu berücksichtigen.

Die Bestimmung des normalen Transpirationsverhältnisses geschah jedesmal in einem Vorversuch, in dem sich alle Blätter nebeneinander im gleichen Raum befanden. Nach der Ermittlung der in einer bestimmten Zeit abgegebenen Wsssermengen wurde von jedem Vergleichspaar das eine Blatt in die r-, das andere in die u-Glocke gebracht. In der letzteren erfolgte dann die Begasung. Die Vorkehrungen, die in allen Versuchen getroffen wurden, um in den beiden Rezipienten gleiche Außenbedingungen (Licht, Temperatur, Luftfeuchtigkeit) zu schaffen, sind bei Besprechung der Transpirationsbestimmungsmethoden angegeben. Nach Beendigung des Versuches wurden die Blattgrößen bestimmt und die Transpiration auf gleiche Flächen (qdcm) und gleiche Zeiten (12 Stunden) umgerechnet. Zur Verdeutlichung der Versuchsergebnisse wurde die Wasserabgabe der u-Blätter in Prozenten derjenigen der r-Blätter ausgedrückt. Aus der Veränderung dieses Wertes bei Begasung mit schwefliger Säure kann der Einfluß dieses Gases auf die Transpiration erschlossen werden.

Die Versuche wurden hauptsächlich mit Blättern vom Rotklee durchgeführt. Grund zur Wahl dieses Objektes war die bekannte Rauchempfindlichkeit dieser landwirtschaftlich gerade für den Industriebezirk hervorragend wichtigen Kulturpflanze. Verwendet wurden verschiedene Herkünfte des Samenhandels. Die mit G und A bezeichneten Individuen entstammten zwei verschiedenen Feldbeständen des Ruhrgebietes, die F-Pflanzen waren im botanischen Garten in Münster gezogen, ebenso die mit Abkürzungen der Herkunftsbezeichnungen benannten Pflanzen (z. B. B = Böhmischer, Rh = Rheinischer, I = Italienischer Rotklee). Die H-Pflanzen waren einem im Frühjahr desselben Jahres zur Aussaat gelangten üppigen Feldbestande entnommen. Die mit S bezeichnete Pflanzengruppe war die in Münster gezogene Nachkommenschaft einer aus einem stark rauchgeschädigten Feldbestande des Industriebezirkes ausgelesenen durch ihre hohe Resistenz auffälligen Pflanze. Die im Freiland kultivierten Pflanzen wurden bei Einsetzen des Frostwetters eingetopft und im Gewächshaus überwintert.

2. Transpirationsversuche mit sichtbar schädigend wirkenden Gasmengen.

Sichtbare Schäden wurden in unseren Versuchen beobachtet, wenn mit hinreichend großen SO_2-Mengen und hinreichend lange begast wurde. Grenzkonzentrationen für sichtbare Wirkung des Gases lassen sich nach unseren Erfahrungen aber nicht angeben. Ebensowenig kann eine untere Grenze für die zu Schädigungen erforderliche Versuchsdauer genannt



S 15 S 6

Abb. 8.
u-Blätter (Versuch LXXX) nach der Begasung.

werden, da das Auftreten von sichtbaren Schäden auch von den Außenbedingungen, besonders aber von dem individuellen Empfindlichkeitsgrad der Pflanze abhängig ist. Nach dem Durchschnitt der Resultate unserer Versuche läßt sich etwa folgende Tabelle aufstellen:

Tabelle 4.
Zustand der Blätter nach Begasung mit schwefliger Säure.

Konzentration der schwefligen Säure	Dauer der Begasung		
	bis 12 Stunden	ca. 24 Stunden	mehr als 24 Stunden
1. höher als 1:20000	starke Schäden	fast immer welk	ganz welk
2. ca. 1:30000	oft Fleckenbildung trockene Ränder	beginnendes Welken	welk
3. ca. 1:50000	normal	normal oder Verfärbung	deutliche Schäden nach 2—3 Tagen
4. ca. 1:100000	normal	normal	selten sichtbare Schäden

Diese Übersicht ist rein phänomenologisch und gilt nur für dieses Objekt (Rotklee) und nur unter den Bedingungen unserer Versuche. Im einzelnen waren zahlreiche Ausnahmen von dieser Regel festzustellen. Sehr häufig verhielten sich unter den identischen Bedingungen eines Versuches die einzelnen Objekte verschieden. Charakteristische Beispiele hierfür bieten die Versuche 22, 26, LXXX, LXXXI, LXXXVI, LXXXV. In Versuch LXXXVI wurden drei Kleeblätter, 2 von der Pflanze S 16, eines von S 15 27 Stunden lang einer Begasung mit SO_2 von der Konzentration von 1:35000 ausgesetzt. Während am Ende dieses Versuches

die S 16-Blätter geschädigt waren, hatte das Blatt von S 15 seinen normalen Zustand voll beibehalten. Das gleiche Objekt blieb auch bei längerer Fortsetzung des Versuches unbeschädigt, obschon noch weitere Begasungen (93 Stunden bei der Konzentration 1:174000 und 25 Stunden bei der Konzentration 1:69000) vorgenommen wurden. In Versuch LXXX war nach einer 12stündigen Begasung von unbekannter Stärke ein wieder von S 15 stammendes Blatt völlig frisch, während zwei Blätter von S 12 stark



6 5 4 3 2 1

Abb. 9.
Alle Blätter aus Versuch LXXX nach der Begasung.

geschädigt waren. (Abb. 8 und 9 und 11.) Da in verschiedenen Versuchen Blätter der Pflanze S 15[1]) verschiedenen anderen Pflanzen gegenüber sich durch besonders hohe Resistenz auszeichneten, scheint diese Eigenschaft nicht den einzelnen Blättern, sondern der ganzen Pflanze zuzukommen. Für diese Annahme spricht auch das Ergebnis des Versuches LXXXIV: hier überstanden drei S 15-Blätter zunächst eine 6stündige Begasung mit SO_2 von der Konzentration 1:48000 und dann eine darauf folgende von



Abb. 10.
Pflanze S 15 (rechts) und S 6 (links).

44 Stunden Dauer, bei welcher die SO_2-Konzentration zunächst den Wert von 1:29000, später nach einer neuen Gabe von Schwefeldioxyd sogar einen solchen von mehr als 1:11000 hatte. Einige vorläufige Versuche sind angestellt worden, um etwa vorhandene Resistenzunterschiede zwischen den verschiedenen Kleeherkünften festzustellen. Als Maß dieser Resistenzunterschiede wurde der Grad der Beschädigung nach 48stündiger Begasung mit einer hohen SO_2-Konzentration angenommen. Möglichst gleich alte

[1]) Vgl. Abb. 10.

und gleich große Blätter von verschiedenen Pflanzen der einzelnen Herkünfte wurden in kleine Gläschen mit Wasser eingesetzt und in einem Rezipienten mit SO_2 von der Konzentration 1:7000 begast.

Tabelle 5.

Resistenzreihe nach 48stündiger Begasung. Konzentration: 1:7000.

Nr.	Bez.	Herkunft	Zustand nach der Begasung
1	S	Schwerin	ungeschädigt
2	Si	Siebenbürgen	Flecken an den Nerven
3	P	Probstei	Flecken an den Blatträndern
4	B	Böhmen	Fleckenbildung stärker
5	Schw.	Schwarzwald	stellenweise trocken
6	Schl.	Schlesien	fast ganz trocken
7	Po	Polen	welk
8	Ba	Bayern	welk
9	Rh	Rheinland	welk
10	L	Lembkes Orig.-Rotklee	welk

Die sich nach diesem Versuche ergebende Resistenzreihe ist in Tabelle 5 mitgeteilt. (Vgl. hierzu Abb. 12.)



S 6 S 15

Abb. 11.
u-Blätter (Versuch LXXVIII) nach der Begasung.

Da innerhalb der genetisch sehr uneinheitlichen Herkünfte die Variabilität sehr groß und transgredierend ist, erlaubt naturgemäß eine solche Resistenzreihe keinen Schluß auf allgemein geltende Resistenzunterschiede zwischen diesen Formenkreisen. Wie groß die Variabilität ist, zeigt die folgende Zusammenstellung von 4 Wiederholungen des vorigen Versuches. (Tabelle 6.) Die Reihe beginnt mit der härtesten und endet mit der empfindlichsten Pflanze. Die benutzten Abkürzungen sind dieselben wie in Tabelle 5. Nur aus der Prüfung an großem Material lassen sich vor-

handene Unterschiede eindeutig festlegen. Die Ergebnisse der wenigen mitgeteilten Versuche erlauben höchstens einen Hinweis auf solche Unterschiede. So wäre nach diesen Reihen auf eine hohe Resistenz der Herkünfte „Schwerin“ und „Probstei“, auf eine geringe von „Polen“ und



S Si P B Schw Schl Po Ba Rh L

Abb. 12 (vgl. Tabelle 6).

„Schwarzwald“ zu schließen. Die höchste Resistenz zeigte jedoch „Schwerin“, die keine Herkunft des Handels sondern bereits die F_2 einer Selektion auf Rauchimmunität ist. Diese Erfahrung wurde in anderen Versuchen sowie durch Feldbeobachtungen im Industriegebiet bestätigt.

Tabelle 6.

Resistenzunterschiede verschiedener Kleeherkünfte.

Resistenzreihe	Nach Versuch I	II	III	IV
1	S	L	S	S
2	P	P	Schl	Si
3	B	Ba	P	P
4	Rh	S	Ba	B
5	Ba	B	B	Schw
6	Po	Si	Schw	Schl
7	L	Rh	Si	Po
8	Schl	Schl	Po	Ba
9	Schw	Schw	L	Rh
10	—	Po	Rh	L

Jedenfalls zeigen auch diese Versuche die hohe Bedeutung der individuellen Eigenart für das Verhalten der Pflanzen gegenüber der schwefligen Säure.

Nicht nur verschiedene Pflanzen sondern auch verschiedene Blätter derselben Pflanze zeigten häufig ungleiche Empfindlichkeit gegenüber der schwefligen Säure. (Versuch LXXXVI, LXXIV, LXXIX u. a.)

Art und Grad der beobachteten Schäden wechselten entsprechend der Intensität und Dauer der Begasung, der individuellen Veranlagung der betreffenden Pflanze und den Versuchsbedingungen. Es wurden alle Übergänge zwischen erster leichter Änderung der Blattstellung, beginnen-

der Bleichung der Blattfarbe und geringgradiger Einrollung der Blattränder und dem Auftreten großer, grauer oder brauner Flecken und gänzlicher Vertrocknung gefunden. Fast stets machten die Schäden durchaus den Eindruck von Vertrocknungserscheinungen. Wurden gering beschädigte Objekte nach dem Versuch in reine Luft gebracht, so nahmen meistens die Schäden nicht weiter zu; eine nachträgliche Vergrößerung der sichtbaren Veränderungen erfolgte dagegen oft nach intensiveren Begasungen.

Am Ende einiger Versuche (besonders 6 und 7) zeigten sich nach Begasungen, die keinerlei sichtbare Blattschäden hervorgerufen hatten. Unterschiede in der Blattstellung zwischen begasten und unbegasten Objekten. Die begasten Pflanzen befanden sich alle mehr oder weniger in Schlafstellung. Es handelte sich um regelrechte Schlafstellung, nicht um ein Schlaffwerden und Herabsinken der Blätter. Diese Art der Blattstellung, die wiederholt beobachtet werden konnte, war vielleicht auch Ursache der in der letzten Periode des Versuches 6 beobachteten Transpirationserniedrigung. In Versuch 7 zeigten die begast gewesenen Blätter außerdem eine epinastische Krümmung der Fiederstielchen.

Durch gasförmige Stoffe ausgelöste Reizbewegungen an Pflanzen beobachtete zuletzt H. Schwartz (1927). Diese Autorin stellte auch einige Versuche mit schwefliger Säure an. Die Blätter, die durch das Gas „fast völlig gebleicht, dabei aber turgescent“ (?) waren, zeigten charakteristische Reizbewegungen (S. 78).

In Tabelle 7 ist als Beispiel für unsere Transpirationsversuche der Versuch 18 ausführlich dargestellt. Dieser Versuch wurde wie alle andern dieser Reihe an in Wasser stehenden Blättern nach der oben (S. 456) angegebenen Methode ausgeführt. In der Tabelle sind zunächst für jedes Objekt die aus den für die angegebene Zeit gemessenen Wasserverlusten

Tabelle 7.

Versuch 18. 3. Februar 1930	G 2		A 2			
	1	2	3	4	5	6
Blattfläche in qcm . . .	3,77	5,62	4,57	7,51	4,26	6,20
3. Februar. 11—18 Uhr Vorversuch	2,769 g	2,406 g	2,556 g	1,903 g	3,000 g	2,273 g
3. Februar. 18 Uhr bis 4. Februar 9 Uhr 1 : 14000	1,633 g	1,652 g	1,158 g	0,763 g	1,514 g	0,838 g
Zustand der Blätter . .	ganz welk	normal	welk	normal	welk	normal
Relative Transpiration:						
Vorversuch	115	100	134	100	132	100
1 : 14000	98	100	152	100	181	100

Temperatur: 25° C.

errechneten Transpirationswerte mitgeteilt. Darunter sind für jedes Vergleichspaar die aus diesen Werten gewonnenen Verhältniszahlen (r = 100, u in Prozenten von r) angegeben. Durch die 15stündige Begasung mit schwefliger Säure von der Konzentration von 1:14000 ist eine Veränderung der Verhältniswerte von 115, 134, 132 auf 98, 152 und 181 erfolgt bei gleichzeitiger schwerer sichtbarer Beschädigung aller Versuchsblätter. Einer Depression der Wasserabgabe in einem Falle steht also eine Stimulation in den beiden andern Fällen gegenüber.

Aus den Verhältniswerten des Vorversuches erweist sich auch in diesem Beispiel die Notwendigkeit, den Einfluß des Gases aus der Veränderung des Transpirationsverhältnisses eines Vergleichspaares, nicht aus den absoluten Werten zu erschließen. Eine ausführliche Darstellung der gesamten Versuche ist leider aus Raummangel nicht möglich. Deshalb sind die gesamten Versuche in einer gemeinsamen Tabelle in abgekürzter Form dargestellt (Tabelle 8). Zur Darstellung der Transpirationsbeeinflussung ist hier die im Vorversuch ermittelte Verhältniszahl gleich 100 gesetzt und der im Begasungsversuch gefundene Wert in Prozenten dieser Zahl ausgedrückt und in der Tabelle in der mit η bezeichneten Kolumne angegeben; ist dieser Wert größer als 100, so zeigt er dadurch eine Transpirationserhöhung, ist er kleiner als 100, eine Depression an.

Wie Tabelle 8 zeigt, ergab sich in den Versuchen, an deren Ende die Objekte sichtbar geschädigt waren, entweder eine Verminderung oder Steigerung des Wasserverlustes. Die Veränderung nahm nach beiden Richtungen hin zum Teil recht hohe Werte an. Eine Hemmung der Wasserabgabe wurde vor allem bei Einwirkung großer SO_2-Mengen, langen Versuchsperioden und hohem Schädigungsgrade gefunden, eine Steigerung umgekehrt bei Begasung von kürzerer Dauer oder geringerer Konzentration und entsprechend kleineren Schäden. Doch zeigten sich von dieser Regel zahlreiche Ausnahmen. Wie bereits erwähnt, war häufig im gleichen Versuche die Wirkung derselben Gasmenge auf den Blattzustand bei den verschiedenen Objekten sehr ungleich. Das gleiche gilt auch für die Transpiration; dies ist bei der Abhängigkeit der Wasserabgabe von dem Blattzustand nur natürlich.

5. Transpirationsversuche bei Anwendung nicht sichtbar schädigend wirkender Gasmengen.

In der großen Mehrzahl aller Fälle, in welchen die begasten Objekte nicht sichtbar geschädigt wurden, transpirierten diese unter dem Einfluß des Gases relativ stärker als im Vorversuche. Dies zeigen vor allem die Versuche, in welchem nicht alle Blätter sichtbar verändert waren. (Versuch 22, LXXXVI.) Daß die hier konstatierte Steigerung eine solche der wirklichen Transpiration ist und nicht durch letalen Wasserverlust herbeigeführt wurde, darf aus dem Umstande, daß die Objekte noch tagelang

Tabelle 8.

η = Verhältniswert der Transpiration, ausgedrückt in Prozenten des Vorversuchswertes.

Versuch Nr.	Temperatur °C	SO_2-Konzentration	Versuchsdauer Std.	Pflanze Nr.	η	Zustand der Blätter
LXII	17	1 : 5 600	94	Rh.	218	Blatt bis auf die Mittelpartie welk
	17	1 : 5 600	94	Rh.	146	
	17	1 : 5 600	94	S	60	Blatt fast ganz welk
	17	1 : 5 600	94	B	42	Ganz welk
LXXIII	19	1 : 9 000	8	S 6	109	Flecken
	19	1 : 9 000	8	S 6	95	Stärkere Flecken
	19	1 : 9 000	8	S 6	107	Ganz welk
LXXVI	18	1 : 10 000	6	S 2	82	Mehr als halb zerstört
	18	1 : 10 000	6	S 1	97	Flecken
	18	1 : 10 000	6	S 3	70	Ganz vertrocknet
LXXIV	17	1 : 11 000	18	S 6	58	Blattränder trocken
	17	1 : 11 000	18	S 4	97	Braune Flecken
	17	1 : 11 000	18	S 5	114	Ränder eingerollt
	17	1 : 11 000	18	S 5	85	Trocken
18	25	1 : 14 000	4	G 1	85	Welk
	25	1 : 14 000	4	A 2	113	Weniger welk
	25	1 : 14 000	4	A 2	137	Weniger welk
LXIV	18	1 : 15 000	4	H 4	125	Stark geschädigt
	18	1 : 15 000	4	H 8	202	Weniger stark geschädigt
	18	1 : 15 000	4	H 12	128	Schwach geschädigt
	18	1 : 15 000	4	H 1	194	Stark geschädigt
19	25	1 : 17 000	16	G 1	129	Beginnt zu welken
	25	1 : 17 000	16	A 2	87	Welk
	25	1 : 17 000	16	A 1	67	Wenig verändert
27	25	1 : 23 000	5	I 4	59	Große Flecken
	25	1 : 23 000	5	I 5	138	Verfärbt
	25	1 : 23 000	5	I 6	151	Blattränder trocken
27	25	?	15	I 4	99	Große Flecken
2. Begasung	25	?	15	I 5	91	Welk
	25	?	15	I 6	94	Welk
LXXIX	19	?	7	S 6	69	Stark beschädigt
1. Begasung	19	?	7	S 6	81	Beschädigt
	19	?	7	S 10	97	Sehr stark beschädigt
ohne Begasung	19	ohne Begasung	15	S 6	67	Stark beschädigt
	19	„	15	S 6	67	Beschädigt
	19	„	15	S 10	56	Sehr stark beschädigt
22	25	?	9	A 4	121	Normal
1. Begasung	25	?	9	A 1	110	Normal
	25	?	9	A 1	96	Schwach verändert
2. Begasung	25	1 : 11 000	16	A 4	77	Etwas verändert
	25	1 : 11 000	16	A 1	82	Fast normal
	25	1 : 11 000	16	A 1	47	Stellenweise trocken
LXXX	19	?	72	S 12	89	Stark beschädigt
	19	?	72	S 12	34	Stark beschädigt
	19	?	72	S 15	139	Normal
21	25	?	72	G 4	116	Auf einer Fieder kl. Flecken
	25	?	72	G 4	41	Braune Flecken
	25	?	72	G 5	81	Große Flecken

Fortsetzung zu Tabelle 8.

Versuch Nr.	Temperatur °C	SO_2-Konzentration	Versuchsdauer Std.	Pflanze Nr.	η	Zustand der Blätter
LXX	18	1 : 31 000	66	?	182	Flecken
7	19	1 : 34 000 (?)	3	G 2	100	Normal
1. Begasung	19	1 : 34 000 (?)	3	F 1	100	
	19	1 : 34 000 (?)	3	F 4	100	
2. Begasung	19	1 : 27 000	63	G 2	101	Normal
	19	1 : 27 000	63	F 1	139	
	19	1 : 27 000	63	F 4	118	
ohne Begasung	19	unbegast	2	G 2	164	Normal
	19	„	2	F 1	154	
	19	„	2	F 4	93	
8	19	1 : 30 000 (?)	2	G 3	134	Normal
1. Begasung	19	1 : 30 000 (?)	2	G 1	157	
	19	1 : 30 000 (?)	2	F 4	180	
2. Begasung	19	1 : 24 000 (?)	16	G 3	124	Normal
	19	1 : 24 000 (?)	16	G 1	117	
	19	1 : 24 000 (?)	16	F 4	136	
ohne Begasung	19	unbegast	2	G 3	78	Normal
	19	„	2	G 1	159	
	19	„	2	F 4	222	
3. Begasung	19	1 : 24 000 (?)	4	G 3	189	Normal
	19	1 : 24 000 (?)	4	G 1	183	
	19	1 : 24 000 (?)	4	F 4	256	
4. Begasung	19	1 : 24 000 (?)	18	G 3	165	Normal
	19	1 : 24 000 (?)	18	G 1	158	
	19	1 : 24 000 (?)	18	F 4	256	
ohne Begasung	19	unbegast	3	G 3	83	Normal
	19	„	3	G 1	178	
	19	„	3	F 4	87	
LXXXVI	17	1 : 35 000	27	S 16	63	Ränder trocken
1. Begasung	17	1 : 35 000	27	S 16	66	Flecken
	17	1 : 35 000	27	S 15	110	Normal
2. Begasung	17	1 : 173 000	94	S 15	99	Normal
3. Begasung	16	1 : 69 000	25	S 15	96	Normal
20	25	1 : 43 000	5	G 2	150	Normal
1. Begasung	25	1 : 43 000	5	G 4	156	
	25	1 : 43 000	5	G 5	120	
2. Begasung	25	1 : 55 000	14	G 2	260	Normal
	25	1 : 55 000	14	G 4	93	
	25	1 : 55 000	14	G 5	113	
LXXXI	21	1 : 45 000	8	S 16	108	Normal
1. Begasung	21	1 : 45 000	8	S 16	89	
	21	1 : 45 000	8	S 15	96	
2. Begasung	20	1 : 33 000	23	S 16	131	Normal
	20	1 : 33 000	23	S 16	133	
	20	1 : 33 000	23	S 15	115	
3. Begasung	17	1 : 30 000	24	S 16	98	Geschädigt
	17	1 : 30 000	24	S 16	79	
	17	1 : 30 000	24	S 15	131	Normal

Fortsetzung zu Tabelle 8.

Versuch Nr.	Temperatur °C	SO_2-Konzentration	Versuchsdauer Std.	Pflanze Nr.	η	Zustand der Blätter
LXXXII	19	1 : 45 000	4	S 14	91	Normal
1. Begasung	19	1 : 45 000	4	S 14	85	
	19	1 : 45 000	4	S 16	133	
2. Begasung	18	unbegast	14	S 14	90	Normal
	18	"	14	S 14	76	
	18	"	14	S 16	123	
3. Begasung	16	1 : 45 000	24	S 14	82	Ausgebleicht
	16	1 : 45 000	24	S 14	67	
	16	1 : 45 000	24	S 16	103	Weniger ausgebleicht
LXXXIII	18	1 : 45 000	24	S 15	158	Normal
1. Begasung	18	1 : 45 000	24	S 15	145	
	18	1 : 45 000	24	S 10	140	
	18	1 : 45 000	24	S 14	108	
2. Begasung	18	1 : 48 000	8	S 15	109	Normal
	18	1 : 48 000	8	S 15	124	
	18	1 : 48 000	8	S 10	148	
	18	1 : 48 000	8	S 14	116	
3. Begasung	18	1 : 24 000	25	S 15	169	Normal
	18	1 : 24 000	25	S 15	136	
	18	1 : 24 000	25	S 10	94	Ein Blattdrittel zerstört
	18	1 : 24 000	25	S 14	109	
ohne Begasung	18	unbegast	21	S 15	187	Normal
	18	"	21	S 15	196	
	18	"	21	S 10	52	Ein Blattdrittel zerstört
	18	"	21	S 14	98	Normal
LXXXV	16	1 : 47 000	94	S 4	—	Völlig zerstört
	16	1 : 47 000	94	S 4	—	
	16	1 : 47 000	94	S 6	—	Nur Mittelpartie intakt
LXXXIV	18	1 : 48 000	8	S 15	126	Normal
1. Begasung	18	1 : 48 000	8	S 15	148	
	18	1 : 48 000	8	S 15	138	
2. Begasung	16	höher als 1 : 11 000	46	S 15	146	Normal
	16		46	S 15	132	
	16		46	S 15	127	
LXIX	20	1 : 49 000	?	?	308	Normal
	20	1 : 49 000	?	?	205	
LXXVIII	18	?	6	S 6	124	Normal
1. Begasung	18	?	6	S 6	126	
2. Begasung	18	?	18	S 6	140	Normal
	18	?	18	S 6	135	
	18	?	18	S 15	107	
3. Begasung	18	?	9	S 6	99	Normal
	18	?	9	S 6	99	
	18	?	9	S 15	114	
4. Begasung	18	?	62	S 6	75	Beginnt zu welken
	18	?	62	S 6	95	
	18	?	62	S 15	224	Normal
30	28	1 : 54 000	7	I 1	97	Normal
1. Begasung	28	1 : 54 000	7	I 2	119	

Fortsetzung zu Tabelle 8.

Versuch Nr.	Temperatur °C	SO_2-Konzentration	Versuchsdauer Std.	Pflanze Nr.	η	Zustand der Blätter
30	28	1 : 46 000	22	I 1	67	Normal
2. Begasung	28	1 : 46 000	22	I 2	70	
26	29	1 : 55 000	8	I 7	139	Fast normal
1. Begasung	29	1 : 55 000	8	I 8	97	Welk
	29	1 : 55 000	8	I 9	112	Etwas welk
2. Begasung	29	1 : 100 000	40	I 7	97	Große Flecken
	29	1 : 100 000	40	I 8	29	Welk
	29	1 : 100 000	40	I 9	43	
5	19	1 : 60 000 (?)	4	G 3	84	Normal
1. Begasung	19	1 : 60 000 (?)	4	F 4	86	
	19	1 : 60 000 (?)	4	A 1	139	
2. Begasung	19	1 : 24 000 (?)	3	G 3	66	Normal
	19	1 : 24 000 (?)	3	F 4	86	
	19	1 : 24 000 (?)	3	A 1	198	
3. Begasung	19	1 : 60 000	17	G 3	106	Graugrün
	19	1 : 60 000	17	F 4	108	Weniger stark verfärbt
	19	1 : 60 000	17	A 1	198	Am wenigsten verfärbt
LXXXVIII	17	1 : 69 000	91	S 6	136	Normal
	17	1 : 69 000	91	S 6	148	
	17	1 : 69 000	91	S 15	170	
6	19	1 : 75 000 (?)	20	F 2	138	Blätter in Schlafstellung, Fiederstielchen epinastisch gekrümmt
1. Begasung	19	1 : 75 000 (?)	20	A 2	167	
	19	1 : 75 000 (?)	20	G 1	120	
2. Begasung	19	1 : 45 000	4	F 2	134	Blätter in Schlafstellung, Fiederstielchen epinastisch gekrümmt
	19	1 : 45 000	4	A 2	178	
	19	1 : 45 000	4	G 1	100	
3. Begasung	19	1 : 75 000	15	F 2	173	Blätter in Schlafstellung, Fiederstielchen epinastisch gekrümmt
	19	1 : 75 000	15	A 2	140	
	19	1 : 75 000	15	G 1	103	
4. Begasung	19	1 : 75 000	2	F 2	100	Blätter in Schlafstellung, Fiederstielchen epinastisch gekrümmt
	19	1 : 75 000	2	A 2	126	
	19	1 : 75 000	2	G 1	83	
25	25	1 : 100 000	24	I 10	230	Normal
	25	1 : 100 000	24	I 11	165	
	25	1 : 100 000	24	Lupine	172	Welk
4	19	1 : 120 000 (?)	3,5	F 2	126	Normal
1. Begasung	19	1 : 120 000 (?)	3,5	F 4	154	
	19	1 : 120 000 (?)	3,5	F 4	130	
2. Begasung	19	1 : 190 000 (?)	3	F 2	218	Normal
	19	1 : 190 000 (?)	3	F 4	146	
	19	1 ! 190 000 (?)	3	F 4	190	
3. Begasung	19	1 : 75 000	62	F 2	328	Normal
	19	1 : 75 000	62	F 4	239	
	19	1 : 75 000	62	F 4	183	
ohne Begasung	19	unbegast	4	F 2	326	Normal
	19	„	4	F 4	176	
	19	„	4	F 4	120	
LXXXVII	17	1 : 174 000	91	S 16	99	Normal
	17	1 : 174 000	91	S 16	127	
	17	1 : 174 000	91	S 3	123	

Fortsetzung zu Tabelle 8.

Versuch Nr.	Temperatur °C	SO_2-Konzentration	Versuchsdauer Std.	Pflanze Nr.	η	Zustand der Blätter
3	19	1 : 200 000	4	G 3	135	Normal
1. Begasung	19	1 : 200 000	4	G 3	177	
	19	1 : 200 000	4	F 2	151	
2. Begasung	19	1 : 200 000	14	G 3	129	Normal
	19	1 : 200 000	14	G 3	125	
	19	1 : 200 000	14	F 2	157	
3. Begasung	19	1 : 500 000	4	G 3	102	Normal
	19	1 : 500 000	4	G 3	90	
	19	1 : 500 000	4	F 2	94	
LXXI 1. Begasung	19	1 : 230 000	17	?	181	Normal
2. Begasung	19	1 : 9 000	22	?	110	Verwelkt
29	25	1 : 9 000	8	Lupinus luteus	162	Gebleicht
	25	1 : 9 000	8		189	Flecken
	25	1 : 9 000	8		95	Bleich und Flecken
23	25	1 : 25 000	9	Lupinus	114	Normal
1. Begasung	25	1 : 25 000	9	angustifolius	126	
	25	1 : 25 000	9		197	
	25	1 : 25 000	9	Lupinus luteus	116	
2. Begasung	25	1 : 200 000	14	Lupinus	262	Normal
	25	1 : 200 000	14	angustifolius	116	
	25	1 : 200 000	14		152	
	25	1 : 200 000	14	Lupinus luteus	228	
3. Begasung	25	1 : 200 000	10	Lupinus	128	Normal
	25	1 : 200 000	10	angustifolius	122	
	25	1 : 200 000	10		83	
	25	1 : 200 000	10	Lupinus luteus	155	
ohne Begasung	25	unbegast	15	Lupinus	97	Normal
	25	„	15	angustifolius	78	
	25	„	15	Lupinus luteus	242	
13 1. Begasung	19	1 : 50 000 (?)	22	Phaseolus vulgaris	102	Normal
2. Begasung	19	1 : 60 000 (?)	19	Phaseolus vulgaris	114	Normal
3. Begasung	19	1 : 40 000 (?)	25	Phaseolus vulgaris	119	Normal
4. Begasung	19	1 : 120 000 (?)	7	Phaseolus vulgaris	112	Normal

Die in den Versuchen 1—13 gemachten Konzentrationsangaben besitzen nur relativen Wert. Sie sind nämlich, weil die Bedeutung des toten Raumes der Bürette, der Zuleitung und der Konzentrationsveränderung durch Entweichen von SO_2 durch die Gummiverbindungen noch nicht erkannt worden war, viel zu hoch gewesen und durch Multiplikation mit einem auf Grund späterer Versuche ermittelten Quotienten korrigiert. In einigen

in frischem Zustande blieben, geschlossen werden. Eine Transpirationserhöhung ließ sich innerhalb eines weiten Konzentrationsbereiches feststellen, dessen untere Grenze durch den eben nicht mehr schädigend wirkenden SO_2-Gehalt gebildet wurde, während die obere Grenze solche Konzentrationen angaben, für die völlige Wirkungslosigkeit auf den Transpirationsprozeß beobachtet wurde. Diese Grenzen sind natürlich für verschiedene Objekte und unter verschiedenen Außenbedingungen ebenso unbestimmbar wie die Grenze für akute Schadenwirkung. Eine Abweichung von der Regel, daß die Transpiration nicht geschädigter Blätter durch SO_2 gesteigert wurde, kam nur ausnahmsweise zur Beobachtung, in 12 von 60 Fällen. In 7 Fällen (Versuch 7, LXXXI S 15, 30, LXXXVII S 16 und 13) waren die Verhältniszahlen des Begasungsversuches von denjenigen des Vorversuches gleich oder nur wenig verschieden. Diese Erscheinung läßt sich in manchen Fällen (Versuch 7, 30) so erklären, daß die Begasungsdauer bei der betreffenden Konzentrationshöhe zu kurz war. In Versuch LXXXVII und 13 könnte das abweichende Verhalten aus der Unempfindlichkeit dieser Objekte dem relativ niedrigeren SO_2-Gehalt gegenüber erklärt werden. Der Grund dafür, daß S 15 in Versuch LXXXI in ihrer Transpirationsintensität durch die schweflige Säure nicht beeinflußt wurde, ist in der auch in anderen Versuchen an Blättern dieser Pflanze beobachteten hohen Resistenz und der damit verbundenen Unempfindlichkeit gegen kürzere oder schwächere Säureeinwirkungen zu suchen. Wo eine Depression der Wasserabgabe festgestellt wurde, war ihr Ausmaß ziemlich gering, viel geringer als die Depression, die bei gleichzeitiger sichtbarer Schädigung beobachtet wurde, und auch geringer als der Grad der Stimulation. Die leider nicht genauer festzulegende Inkonstanz des im Vorversuch ermittelten Transpirationsverhältnisses könnte leicht die Ursache der Abweichungen sein. Auch ist schwer feststellbar, ob in einem Einzelfall ein Blatt schon beschädigt oder noch normal ist, so daß eine beobachtete Transpirationshemmung eines scheinbar noch normalen Blattes in Wirklichkeit schon als Folge einer äußeren, aber nicht beachteten Veränderung und nicht als primäre SO_2-Wirkung anzusehen ist (Versuch LXXXI S 16 und LXXXII S 14). Das Ausmaß der durch SO_2 bewirkten Stimulation war außerordentlich verschieden; in einigen Fällen änderte sich das Transpirationsverhältnis um weit mehr als 100 % (z. B.

Versuchen ist versehentlich die Notierung der Konzentration unterblieben; sie sind nach unseren Erfahrungen über das Auftreten sichtbarer Schädigungen in diese nach der Konzentrationshöhe geordnete Tabelle eingereiht. In den Versuchen 18—29 waren die Rezipienten, um konstantere Außenbedingungen zu erhalten, in einem Tageslichtthermostaten untergebracht. Die Temperaturangaben der übrigen Versuche stellen Durchschnittswerte dar. In der letzten Spalte ist für jedes Objekt der am Ende der betreffenden Periode beobachtete Blattzustand angedeutet. Die den Angaben zugrunde liegenden ausführlichen Versuchsprotokolle sind im Botanischen Institut in Münster hinterlegt und können dort eingesehen werden.

Versuch LXIX). Die Verschiedenartigkeit der Reaktion ist bei der großen Zahl der beeinflussenden Außenfaktoren (Wassergehalt, Luftfeuchtigkeit, individuelle Resistenz) leicht zu verstehen.

Wie aus den Angaben der Tabelle hervorgeht, wurden bei wiederholten Begasungen des gleichen Objektes die verschiedensten Wirkungen beobachtet. Wurden in den späteren Perioden höhere und sichtbar schädigende Konzentrationen benutzt, so erfolgte häufig mit Auftreten äußerer Veränderungen auch eine Depression der Wasserabgabe (LXXXVIII, 4. Begasung). Eine Depression trat bei wiederholter Begasung auch dann ein, wenn schon in der ersten Periode die Objekte sichtbar verändert, aber in ihrer Wasserabgabe noch stimuliert waren, selbst wenn in der zweiten Periode eine SO_2-Menge einwirkte, welche bei unbeeinflußten Pflanzen eine Steigerung der Wasserabgabe hervorzurufen pflegt (Versuch 26). Wenn auf eine Begasung ohne sichtbar schädigende Wirkung weitere von gleicher Stärke und gleicher oder längerer Dauer folgten, so konnte dann die sichtbare Schädigung und damit eine Hemmung der Wasserabgabe eintreten. Ebenso uneinheitlich war die Wirkung späterer Begasungen mit kleineren SO_2-Mengen. Auch hier dauerte teils die Stimulation fort oder nahm sogar quantitativ noch zu, teils verringerte sie sich, oder wurde von einer Depression abgelöst. Eine Regel für die Wirkung wiederholter Begasungen kann also nicht angegeben werden. Diese Wirkungen sind deshalb schwer deutbar, wie in diesen Fällen das Gas auch bei Fehlen sichtbarer Schäden nicht mehr auf wirklich normale, sondern auf bereits physiologisch umgestimmte Pflanzen wirkt.

In einigen Versuchen wurde die Transpiration nach beendeter Begasung noch weiter verfolgt. Hatten die Objekte trotz sichtbarer Beschädigung während der Begasung noch einen hohen Wasserverlust gehabt, so zeigte sich im Nachversuch eine Hemmung der Wasserabgabe: bei bereits deprimierten Objekten nahm die Depression noch weiter zu (LXXIX). War im Begasungsversuch keine sichtbare Schädigung eingetreten, so ließ sich teils ein Rückschlag des Verhältniswertes auf seine Vorversuchsgröße, teils aber auch eine weitere Stimulation beobachten, die sowohl kleiner als die ursprüngliche Steigerung, als auch dieser gleich und sogar noch stärker sein konnte. In einigen Versuchen folgte auf eine durch SO_2 bewirkte Erhöhung der Wasserabgabe ein Rückgang der Transpirationsintensität im Nachversuch ohne schweflige Säure (Versuch 4, 7, 8, LXXXII, LXXXIII). Der Grund eines solchen Verhaltens muß in einer Abnahme der Wassersättigung als Folge der voraufgegangenen Stimulation gesehen werden.

In einigen unserer Versuche schien sich eine Beziehung zwischen SO_2-Empfindlichkeit und Transpirationsintensität zu zeigen. So ergab sich in Versuch LXXXVI, in dem drei Vergleichspaare, zwei von der Pflanze S 16 und eines von S 15 untersucht wurden, nach dem Blattzustand am

Ende der 27stündigen Begasung die Resistenzreihe: 5 (S 15), 3 (S 16), 1 (S 16). Das erste Blatt war noch völlig normal, die beiden andern zeigten sichtbare Schäden. Bei 1 waren die Blattränder eingerollt, Nr. 3 hatte Flecken. Im Vorversuch hatten dieselben Objekte je qdcm und 12 Stunden transpiriert, Nr. 1 1,805 g, 3 1,903 g und 5 0,817 g Wasser. Das resistenteste Blatt Nr. 5 besaß demnach eine weit geringere Transpirationsintensität als die anderen beschädigten Objekte. Auf eine solche Korrelation zwischen hoher Resistenz und geringer Transpirationsintensität wies besonders die auffallend geringe Verdunstungskraft der sehr widerstandsfähigen Pflanze S 15 hin.

Tabelle 9.

Resistenzreihe	1	2	3
Versuch Nr. 19	36,1	44,8	100
„ „ 20	62	90	100
„ „ 21	59	79	100
„ „ 22	102	136	100
„ „ LXII	65	103	100
„ „ LXIV	63	81	100
„ „ LXXII	66	78	100
„ „ LXXVI	39	47	100
„ „ LXXVIII	23 (S 15)	71	100
„ „ LXXIX	92	66	100
„ „ LXXX	17 (S 15)	60	100
„ „ LXXXI	27 (S 15)	94	100
„ „ LXXXII	62	86	100
„ „ LXXXVI	45 (S 15)	105	100

In Tabelle 9 sind für alle Versuche, in welchen der verschiedene Beschädigungsgrad der begasten Objekte die Aufstellung einer Resistenzreihe erlaubte, für die einzelnen Glieder dieser Reihe die Transpirationsgrößen in Verhältniszahlen eingetragen, wobei die Transpiration des empfindlichsten d. h. meist beschädigten Blattes gleich 100 gesetzt ist. Der Berechnung sind die auf gleiche Flächen und für 12 Stunden umgerechneten Transpirationswerte der Vorversuchsperiode zugrunde gelegt. Die Aufstellung der Resistenzreihe war manchmal bei geringen Schadenunterschieden nicht ganz sicher. Im allgemeinen aber haben die später am stärksten geschädigten Blätter auch am stärksten transpiriert.

Wie schon früher erwähnt, mußte geringe Transpirationsintensität als individuelle Eigenschaft der Pflanze S 15 gelten, da sich dieses Merkmal in verschiedenen Versuchen gegenüber verschiedenen Pflanzen zeigte. (Vgl. S. 460.) Im Gegensatz zu den früheren Erfahrungen zeigten aber in einem Versuche (LXXXVIII) die Blätter von S 15 eine größere Flächentranspiration als die von S 6, während erstere Pflanze im Versuch LXXVIII bedeutend schwächer als S 6 transpirierte. Aus den Werten aller in Versuch LXXVIII benutzten Blätter errechnet sich das Transpirations-

verhältnis S 15 : S 6 wie 100 : 363, entsprechend aus Versuch LXXXVIII wie 100 : 84 für die 1. Periode und 100 : 137 für die 2.; hierbei fällt der Unterschied der Verhältniswerte der unbegasten Blätter in den beiden Perioden des letzten Versuches auf. Hierbei ist zu beachten, daß bei allen Blättern die zeitrelative Transpiration der zweiten Periode einen höheren Wert als im Vorversuch annahm. Dies erklärt sich aus dem verschieden hohen Dampfdruckpotential in diesen beiden Versuchsperioden. Im Vorversuch standen die Pflanzen im Gewächshaus in relativ feuchter Luft, im Begasungsversuch in der durch die Schwefelsäure trocken gehaltenen Atmosphäre des Rezipienten. Es erscheint aber die Wasserabgabe von S 6 durch die Vergrößerung des Dampfdruckpotentials mehr gesteigert als die von S 15. Letztere Pflanze setzt somit den die Transpiration verändernden Faktoren einen größeren Widerstand entgegen; daher auch die Wirkungslosigkeit geringer SO_2-Mengen auf die Transpiration. Eine zweite Erklärungsmöglichkeit für den Unterschied des Transpirationsverhältnisses beider Pflanzen in den zwei Versuchen ergibt sich aus den Blattgrößenunterschieden. Im Gegensatz zu Versuch LXXVIII sind in dem anderen die von S 6 benutzten Blätter alle um ein Bedeutendes, zum Teil um das Doppelte größer als die von S 15. Letztere haben absolut merklich weniger Wasser als die S 6-Blätter abgegeben. Wenn bei extrem großen Flächenunterschieden die Transpiration nicht genau flächenrelativ erfolgt, die kleineren Blätter also pro Flächeneinheit mehr Wasser abgeben als weitaus größere, dann würde dies ein zweiter Umstand sein, der das Verständnis der einander widersprechenden Ergebnisse erleichtern würde. Für die soeben gemachte Voraussetzung scheint auch der früher erwähnte Befund zu sprechen, daß die flächenrelative Transpiration bei Errechnung aus der Wasserabgabe eines kleinen Blatteils einen höheren Wert erreicht, als wenn die Transpiration an der Wasserabgabe einer größeren Blattfläche gemessen wird. Wenn diese Ergebnisse dem Seyboldschen physikalisch motivierten Postulat gleicher flächenrelativer Transpiration in diesem Dimensionsbereich zu widersprechen scheinen, so muß unter Würdigung der Seyboldschen Argumentation die erwiesene Verschiedenheit physiologisch bedingt sein. Die gleiche Beobachtung der quantitativ geringeren Reaktion der Pflanze S 15 auf transpirationssteigernde Einflüsse wiederholte sich in Versuch LXXXIII. Im Vorversuch standen auch hier wieder die Blätter im Gewächshaus in einer feuchteren Atmosphäre als in dem durch Schwefelsäure trocken gehaltenen Rezipienten während der Begasungen. Die auf gleiche Zeiten und Flächen bezogenen Transpirationswerte der r-Blätter — die u-Blätter müssen hier bei der SO_2-Wirkung unberücksichtigt bleiben — sind bei S 15 weit weniger gestiegen als bei den anderen Objekten. Die ersteren vermögen demnach der Steigerung der Transpiration einen erhöhten Widerstand entgegenzusetzen.

Das gleiche Ergebnis wie die Versuche mit Rotklee hatten solche,

die mit *Lupinus luteus* und *Lupinus angustifolius* ausgetührt wurden. Die Konzentration 1:9000 im Versuche 29 hat an den Blättern der gelben Lupinen sichtbare Schäden hervorgerufen. Eines der begasten Blätter hat trotzdem noch mehr, die andern haben relativ weniger Wasser als im Vorversuch abgegeben. In Versuch 23 sind trotz der hohen Konzentration die begasten Blätter nicht sichtbar geschädigt. Die Transpiration war durch die erste und die folgenden schwächeren Begasungen stimuliert. Eine Ausnahme bildet nur das Blatt Nr. 6, das in der 4. Periode in der Transpiration deprimiert war. In der letzten Periode ohne Begasung stellt sich überall das Vorversuchsverhältnis wieder ein. *Lupinus luteus* scheint nach diesen ebenso wie auf Grund anderer Erfahrungen etwas empfindlicher zu sein. Es zeigt die Lupine also ein im wesentlichen gleiches Verhalten wie der Rotklee. *Phaseolus vulgaris* blieb während mehrerer ungleich intensiver Begasungen von insgesamt 73 Stunden Dauer äußerlich unbeschädigt. Die drei letzten Begasungen bewirkten eine geringe Transpirationszunahme.

4. Versuche über den Einfluß kurzfristiger Begasungen auf die Transpiration von Blattstücken.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde der Einfluß von kurzfristigen Begasungen mit schwefliger Säure auf die Wasserabgabe von Rotklee-Blattstückchen untersucht. Die Versuche wurden nach der Seite 456 beschriebenen Methode ausgeführt.

Die Angaben über die SO_2-Konzentration in der Begasungsglocke beanspruchen nur Geltung als Näherungswerte. Es ergab sich eine Reihe von Schwierigkeiten, deren Ursachen erst im Laufe der Untersuchungen erkannt werden konnten. Die Hauptschwierigkeit war bei den uns zur Verfügung stehenden Hilfsmitteln unvermeidlich. Es konnten ja die begasten Blattstückchen nicht im SO_2-Raum selbst gewogen werden. Bei der Herausnahme der Objekte aus dem Rezipienten war nicht zu vermeiden, daß eine Verdünnung der Gaskonzentration eintrat. Nun hätte man allerdings beim Wiedereinbringen der Objekte die gewünschte Gaskonzentration wieder herstellen können nach gründlicher vorhergegangener Lüftung der Glocken. Allein auch dieses Verfahren war technisch nicht zu bewerkstelligen. Es stellte sich nämlich heraus, das Spuren von SO_2 mit großer Zähigkeit von den Glaswänden adsorbiert und außerordentlich langsam an den Gasraum wieder abgegeben werden. Eine weitere Unsicherheit entstand dadurch, daß nicht alle aus der Natriumsulfitlösung freigemachte SO_2-Menge sofort gasförmig entweicht. Die zur Entwicklung benutzte Schwefelsäure hält je nach Temperatur und Konzentration wechselnde Mengen von schwefliger Säure fest. Eine analytische Nachprüfung der errechneten SO_2-Gehalte war bei den niedrigen Konzentrationen und dem geringen Volumen undurchführbar.

Die SO_2-Wirkung wurde auch in dieser Versuchsreihe aus der Veränderung des normalen Transpirationsverhältnisses zweier Vergleichselemente, welches in einem Vorversuch, in dem alle Objekte unter identischen Bedingungen standen, festgestellt wurde, erschlossen. In Tabelle 10 sind die Versuche mit ähnlichen Konzentrationen zusammengefaßt und ihre Mittelwerte, welche die Änderung des Transpirationsgrößenverhältnisses der Vergleichspaare unter SO_2-Wirkung wiedergeben, und welche so gewonnen sind, daß die aus den absoluten Wasserverlustgrößen des Vorversuches errechneten Verhältniswerte gleich 100 gesetzt und die Werte der Begasungsperioden prozentual ausgedrückt wurden, mitgeteilt.

Tabelle 10.

SO_2-Konzentration	Veränderung des Transpirationsverhältnisses durch SO_2-Begasung in Periode:		
	I	II	III
1 : 1000	112	102	105
bis 1 : 10000	112	103	101
bis 1 : 50000	113	102	94

In den drei Gruppen hat die schweflige Säure in der ersten Begasungsperiode eine Transpirationserhöhung bewirkt; die Stimulation ist in diesen Gruppen ungefähr gleich stark. In den beiden folgenden Perioden geht die Transpiration der begasten Blattstücke jedoch wieder zurück.

Aus dem Verlauf der Wasserabgabe ausgestanzter Blattstückchen ergibt sich eine große Schwierigkeit: Hat ein Objekt eine gewisse Zeit lang mehr Wasser verloren als das Vergleichsobjekt, so muß wegen der ansteigenden Transpirationswiderstände seine Wasserabgabe sich früher verlangsamen. Durch diesen Umstand wird ein Schwanken des Transpirationsverhältnisses eines Vergleichspaares herbeigeführt. Die normalen Schwankungen des Verhältnisses erfolgen jedoch nach beiden Seiten hin um den Mittelwert. Da in unseren Versuchen das Verhältnis durch die Begasung immer nur in derselben Richtung verschoben ist und die in Tabelle 10 gegebenen Werte Mittelwerte aus mehreren mit einheitlichem Resultat verlaufenen Versuchen sind, dürfen nach unserem Ermessen trotzdem die Resultate als außerhalb der Fehlergrenzen, die nur schwer zu bestimmen sind, liegend angesehen werden.

Aus den Ergebnissen der vergleichenden Transpirationsmessungen an begasten und unbegasten Kleeblattstückchen darf also mit einiger Sicherheit auf eine Beeinflussung der Transpirationsintensität durch die schweflige Säure geschlossen werden. Und zwar wird selbst durch relativ hohe Konzentrationen (z. B. 1 : 1000) die Wasserabgabe gesteigert. Der Grad der SO_2-Wirkung auf verschiedene Pflanzen ist ein verschiedener. Den Transpirationsverlauf von Blattstückchen in einer SO_2-Atmosphäre für längere

Zeit zu verfolgen, gestattet dagegen diese Methode nicht, besonders weil die natürlichen durch den bei ungleicher Wasserabgabe ungleich stark sinkenden Wassergehalt bedingten Schwankungen der Transpirationsgrößen in späteren Perioden eine etwaige SO_2-Wirkung verdecken.

In der Hoffnung, eine genauere Vorstellung über die momentane Wirkung der schwefligen Säure auf die Wasserabgabe von Blattstückchen gewinnen zu können, wurden einige Versuche mit etwas geänderter Methode und kurzen, zwei Minuten dauernden Wägungsperioden gemacht.

Ein Kleeblattstückchen wurde in gewohnter Weise ausgestanzt und alle zwei Minuten auf der Torsionswage gewogen. Während des ganzen Versuches verblieb es auf der Waage. Ein mit einem seitlichen Ansatzrohr versehener Rezipient wurde so unter dem Waage-

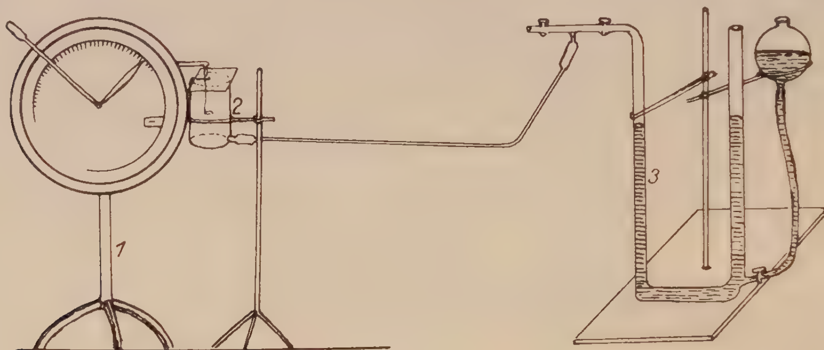


Abb. 13.
1 Torsionswaage 2 Rezipient 3 Gasbürette mit SO_2.

balken der Torsionswaage angebracht, daß das Versuchsobjekt sich stets in diesem Gefäß befand. In das seitliche Rohr des Rezipienten ragte mit kapillarer Spitze ein Zuleitungsrohr, durch welches ein SO_2-Luftgemisch bekannter Konzentration aus einer Gasbürette eingebracht werden konnte. Dadurch war eine Begasung des Blattstückchens, ohne es von der Waage zu entfernen, und während der Wägungen möglich. Während der Begasung war der Rezipient oben mit einer Glimmerplatte verschlossen. Diese besaß einen Einschnitt, der dem Wägedraht, an dem das Objekt hing, freies Spiel gestattete. Abb. 13 gibt eine Skizze der Versuchsapparatur.

Zunächst wurde das Kleeblattstückchen für einige Zeit alle zwei Minuten gewogen, dann dem Wägegläschen aus der Gasbürette eine kleine Menge eines Gasgemisches mit bekanntem SO_2-Gehalt zugeführt. Später konnte durch Abheben des Deckels und Senken des Wägegläschens das Gas wieder entfernt werden.

Das Ergebnis dieser Versuche ist in den folgenden Tabellen wiedergegeben.

Bei dieser Art der Untersuchung ist die Wirkung der schwefligen Säure auf die Transpiration aus der Veränderung der Wasserverlustgrößen während der Begasung gegenüber der Wasserabgabe desselben Objektes in gleich langer Zeit ohne SO_2 zu erkennen. Da bietet sich bei unserer Methode, der Wägung ausgestanzter Blattstückchen, jedoch die große Schwierigkeit, daß in aufeinander folgenden Zeiträumen auch bei kon-

stanten Außenfaktoren eine gleich große Wasserabgabe nicht zu erwarten ist. Die Transpirationsintensität nimmt ja schon „normalerweise“ ab; die Transpirationskurve fällt. Eine eingetretene Transpirationshemmung oder Steigerung wird sich demnach nicht in absolut größeren oder kleineren Zahlenwerten oder in einem direkten Anstieg oder Abfall der Transpirationskurve zeigen, sondern nur in geringerer oder größerer Steilheit des Abfalls. Der normale Abfall der Transpirationskurve wird mit zunehmender Zeit immer kleiner; außerdem hängt er aber noch von zahlreichen anderen Faktoren, besonders von dem Grade der relativen Luftfeuchtigkeit ab. Nur war bei unserer Versuchsanordnung während der Begasung ein Verschluß des Gläschens, welches das Versuchsobjekt enthielt, notwendig. Dadurch war aber gleichzeitig eine fortschreitende Erhöhung der Luftfeuchtigkeit und damit eine Verringerung des Dampfdruckpotentials bedingt. Dies muß zu einer Herabsetzung der Transpiration, aber auch zu einer Verlangsamung der Austrocknung des Blattstückchens führen. Somit ergibt sich, daß abgesehen vom SO_2-Einfluß auch durch die Versuchsanordnung eine Veränderung des normalen Transpirationsverlaufs verursacht wird. Die im Rezipienten sich ansammelnde Feuchtigkeit führt zu einer Transpirationshemmung; zum „normalen“ Transpirationsabfall kommt noch die durch die höhere Luftfeuchtigkeit bedingte Transpirationsabnahme.

Je größer das Dampfdruckpotential ist, umso steiler aber fällt die Kurve der Wasserabgabe. Darum steht der Vergrößerung des Abfalls durch die an sich schon sinkende Transpiration eine Verkleinerung durch Verlangsamung des Welkevorganges entgegen. Es wird also zunächst eine besonders starke Abnahme der Wasserverlustgrößen zu erwarten sein, da die steigende Feuchtigkeit in dem kleinen Versuchsraum der Transpiration immer größeren Widerstand entgegensetzt; wenn dagegen die Werte der Wasserabgabe eine bestimmte untere Grenze erreicht haben, ist kein erheblicher weiterer Abfall für längere Zeit zu erwarten. Da der Abfall der Transpiration mit zunehmender Zeit geringer wird, müssen die Transpirationswerte aufeinander folgender Perioden umso ähnlicher werden, je größer der seit Versuchsbeginn verstrichene Zeitraum ist. Dieser Umstand erfordert ebenfalls Beachtung, wenn aus dem Transpirationsverlauf die Wirkung einer SO_2-Begasung zu erschließen ist.

In allen Versuchen war der Transpirationsabfall ziemlich gering. In den Begasungsperioden ist eine deutliche Transpirationsänderung nicht wahrzunehmen. Die ersten Werte bei Begasung sind meist nur wenig verschieden von denjenigen der letzten Perioden vor der Begasung. Dann zeigt sich allerdings zum Teil ein schnelles Sinken; dies ist, wie oben erwähnt, mehr zurückzuführen auf eine Erniedrigung des Dampfdruckpotentials in dem relativ kleinen Wägeraum als auf eine eventuelle deprimierende Wirkung der schwefligen Säure. Dafür spricht auch das zum

Teil bedeutende Ansteigen der Transpiration beim Öffnen des Rezipienten nach der Begasung. Beginn und Ende der Begasungen sind in der Tabelle 11 durch horizontale Striche in den Zahlenreihen markiert. Die SO_2-Konzentration, die zur Anwendung kam, war in den einzelnen Versuchen ver-

Tabelle 11.

Transpiration von Kleeblattstückchen in je zwei Minuten.

Periode	Versuch											
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
1	0,11	0,17	0,17	0,13	0,13	0,09	0,14	0,06	0,09	0,10	0,04	0,04
2	0,11	0,16	0,15	0,11	0,07	0,08	0,14	0,05	0,10	0,10	0,04	0,04
3	0,11	0,16	0,16	0,08	0,10	0,07	0,12	0,06	0,09	0,11	0,04	0,04
4	0,11	0,16	0,14	0,09	0,11	0,08	0,12	0,06	0,09	0,08	0,04	0,05
5	0,06	0,13	0,13	0,09	0,06	0,07	0,12	0,06	0,09	0,08	0,05	0,07
6	0,05	0,10	0,12	0,10	0,08	0,06	0,13	0,06	0,07	0,07	0,05	0,06
7	0,05	0,12	0,12	0,07	0,10	0,06	0,13	0,06	0,06	0,09	0,04	0,03
8	0,05	0,11	0,10	0,08	0,09	0,05	0,12	0,06	0,10	0,07	0,04	0,04
9	0,04	0,08	0,11	0,07	0,08	0,03	0,11	0,06	0,08	0,06	0,04	0,05
10	0,04	0,08	0,10	—	0,06	0,04	0,08	0,07	0,06	0,06	0,05	0,05
11	0,03	0,06	0,10	—	0,07	0,03	0,08	0,05	0,05	0,07	0,04	0,06
12	0,04	0,06	0,10	—	0,06	0,03	0,08	0,04	0,07	0,07	0,04	0,05
13	0,04	0,06	0,10	—	0,08	0,04	0,07	0,07	0,07	0,03	0,04	0,04
14	0,03	0,06	0,09	—	0,07	0,04	0,10	0,07	0,06	0,07	0,05	0,05
15	0,02	0,05	0,10	—	0,06	0,03	0,07	0,06	0,05	0,05	0,05	0,06
16	0,07	0,04	0,08	—	0,06	0,03	0,06	0,05	0,03	0,05	0,05	0,04
17	0,01	0,04	0,10	—	0,08	0,03	0,06	0,14	0,08	0,05	0,03	0,05
18	0,02	0,04	—	—	0,08	0,04	—	0,06	0,05	0,03	0,05	0,05
19	0,03	0,04	—	—	0,07	0,04	—	0,06	0,05	0,03	0,03	0,05
20	0,02	0,04	—	—	0,07	0,02	—	0,08	0,06	0,05	0,05	0,03
21	—	0,05	—	—	0,07	0,02	—	0,07	0,05	0,05	0,04	0,03
22	—	0,04	—	—	0,07	0,05	—	0,02	0,07	0,05	0,04	0,04
23	—	0,04	—	—	—	0,02	—	—	0,03	0,03	0,02	0,05
24	—	0,04	—	—	—	0,02	—	—	0,06	0,03	0,04	0,04
25	—		—	—	—	0,05	—	—	0,03	0,04	0,04	0,04
26	—	—	—	—	—	—	—	—	0,06	0,03	0,04	0,06
27	—	—	—	—	—	—	—	—	0,04	0,05	0,03	0,03
28	—		—	—	—	—	—	—	0,04	0,03	0,04	0,05
29	—	—	—	—	—	—	—	—	0,05	0,03	0,05	0,05
Konz.	0,25 %	0,25 %	0,07 %	0,07 %	0,07 %	0,03 %	0,008 %	0,008 %	0,008 %	0,0005 %	?	?
5 Perioden vor der Begasung	0,25	0,45	0,70	0,37	0,41	0,34	0,64	0,29	0,28	0,30	0,21	0,26
5 Perioden bei der Begasung	0,18	0,27	0,53	0,32	0,34	0,18	0,57	0,31	0,29	0,21	0,22	0,22
Verhältnis %	72	60	76	86	83	53	89	107	104	70	105	85

schieden hoch. Es waren relativ große Gaben gewählt worden, da ja die Wirkung der schwefligen Säure in den ersten ganz kurzen Zeitabschnitten untersucht werden sollte und am ehesten so deutlich bemerkbare Veränderungen des Transpirationsganges zu erwarten waren. Diese Erwartungen erfüllten sich jedoch nicht. Eher noch war bei schwächeren Kon-

zentrationen eine Verringerung des Transpirationsabfalls nach der Begasung zu beobachten. Da nur der Grad des ja an sich schon vorhandenen Abfalls einige Vermutungen über die SO_2-Wirkung zuläßt, wurden, um hierüber eine deutlichere Vorstellung zu erhalten, die letzten fünf Werte vor und die ersten fünf Werte nach Beginn der Begasung zusammengefaßt. Wird nun dieser letztere Wert in Prozenten des ersteren ausgedrückt, so erlaubt diese Zahl einen Schluß auf den Grad des Abfalls. Diese so errechneten Werte sind in Tabelle 11 mitangeführt. Da zeigt sich, daß, von zwei Ausnahmen abgesehen, die Versuche mit geringeren Konzentrationen die höheren Werte zeigen. Die eine Ausnahme, Versuch X, ließe sich dadurch erklären, daß die hier verwandte Konzentration unterhalb der Empfindlichkeitsgrenze des Blattes lag. Die andere Ausnahme, Versuch VI, wäre dagegen unerklärlich. Bei Beurteilung dieser Zahlen ist zu berücksichtigen, daß der Wert schon normalerweise unter 100 liegt, also ein niedrigerer Wert als 100 keine herabgesetzte Transpiration bedeutet. Wohl aber darf aus einer Größe über oder wenig unter 100, die ja das Aufhören oder eine starke Verringerung des Abfalls anzeigt, auf eine Transpirationssteigerung durch die schweflige Säure geschlossen werden. Da eine Berechnung des „normalen" Transpirationsabfalls bei den durch unsere Versuchsanordnung bedingten Komplikationen als undurchführbar erscheint, lassen diese Zahlen nur eine Andeutung über die SO_2-Wirkung zu. Da aber eine Erniedrigung des Abfalls ziemlich genau einer Senkung des SO_2-Gehaltes parallel geht, dürfen diese Versuchsergebnisse als eine solche Andeutung einer zunächst stimulierenden Wirkung der schwefligen Säure in nicht zu hohen Konzentrationen betrachtet werden.

Einige dieser Versuche wurden noch über die Zeit der in der Tabelle mitgeteilten Messungen fortgesetzt. Dabei wurde einige Zeit nach Beendigung der Begasung, wenn die schweflige Säure aus dem Rezipienten entfernt war, dieser vorsichtig mit wassergesättigtem Filtrierpapier ausgekleidet und in ihn hinein Wasser gegeben. Dadurch gelangte das ziemlich weit ausgetrocknete Blattstückchen in eine dampfgesättigte Atmosphäre. In allen Versuchen wurde übereinstimmend beobachtet, daß dann eine Gewichtszunahme des Objektes eintrat, die nur durch Aufnahme von Wasserdampf aus der Atmosphäre von der Blattfläche erklärt werden kann. Für einen dieser Versuche sind die zu den einzelnen Zeitpunkten gemessenen Gewichte in Versuch VI (nächste Seite) mitgeteilt.

Die Gewichtskurve (vgl. Abb. 14) sinkt mit schon anfänglich geringer und weiterhin noch mehr abnehmender Steilheit. Bei Einführung des Wassers in den Rezipienten hört die fallende Bewegung sofort auf; nach wenigen Minuten beginnt die Kurve etwas anzusteigen; nachdem sie den Wert von 13,17 mg erreicht hat, 0,07 mg mehr als auf dem tiefsten Stand der Kurve vor der Herstellung der dampfgesättigten Atmosphäre, tritt kein weiterer Anstieg mehr ein. Um 17,42 Uhr wurde von neuem begast.

Diese neue Begasung bewirkte jetzt aber ein weiteres Ansteigen des Gewichtes der Blattstückchen; dieses nahm also weiter Wasserdampf aus der Atmosphäre auf. Das Gewicht stieg bis auf 13,21 mg, sank dann vorübergehend wieder auf 13,17 mg, stieg sofort aber wieder, um bis zum Ende des Versuches auf dem Werte von 13,20 mg stehen zu bleiben. Außer diesem eben angeführten Versuch wurden noch drei andere in gleicher Weise und mit dem gleichen Resultat ausgeführt.

Versuch VI.

Gewichte des Blattstückchens in mg.

h.	16,16	16,18	16,20	16,22	16,24	16,26	16,28	16,30	16,32	16,34	16,36	16,38
mg.	14,28	14,19	14,11	14,04	13,96	13,89	13,83	13,77	13,72	13,69	13,65	13,62
h.	16,40	16,44	16,46	16,48	16,50	16,52	16,54	16,56	16,58	17,00	17,02	
mg.	13,59	13,51	13,48	13,45	13,42	13,38	13,34	13,32	13,30	13,25	13,23	
h.	17,04	17,06	17,11	17,20	17,25	17,18	17,30	17,32	17,34	17,36	17,38	17,40
mg.	13,21	13,16	13,10	13,10	13,14	13,16	13,16	13,17	13,17	13,17	13,17	13,17
h.	17,42	17,44	17,47	17,48	17,50	17,52	17,54	17.56	18,14	18,19	18,22	18,24
mg.	13,17	13,17	13,18	13,19	13,20	13,20	13,21	13,21	13,17	13,17	13,20	13,20
h.	18,27	18,29	18,35	18,45								
mg.	13,19	13,20	13,20	13,20.								

1. Begasung von 16,30 bis 16,46 Uhr. Von 17,11 Uhr an in dampfgesättigter Atmosphäre. 2. Begasung von 17,42 Uhr an.

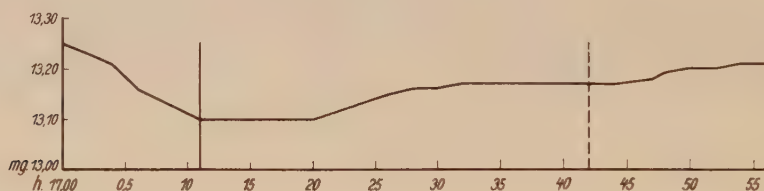


Abb. 14.

Gewichtskurve eines Kleeblattstückchens. Von 17,11 Uhr in dampfgesättigter Atmosphäre, um 17,42 Uhr SO_2 zugeführt.

Aus dieser ganzen Versuchsreihe darf also geschlossen werden, daß 1. die Transpiration ausgestanzter Blattstückchen durch Begasung mit schwefliger Säure zunächst gesteigert wird, daß 2. Blattstückchen, die bis zu einem gewissen Grade ausgetrocknet sind, aus einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre geringe Mengen dampfförmigen Wassers durch die Blattfläche aufnehmen. Die auf diese Weise erreichbare Gewichtszunahme geht aber durchaus nicht soweit, daß das Anfangsgewicht wieder erreicht wird. 3. Durch Begasung mit schwefliger Säure kann auch die Wasseraufnahme durch die Blattflächen um einen kleinen Wert erhöht werden. Zur Erklärung dieses letzten Befundes kann vielleicht eine Permeabilitätssteigerung der Blattaußenwände angenommen werden, durch die ein weitergehender Ausgleich des Dampfdruckpotentials Atmosphäre—Blattsystem ermöglicht wird. Eine andere Erklärungsmöglichkeit wäre

darin zu sehen, daß durch die schweflige Säure eine größere Appertur der Stomata bewirkt würde.

Zur Frage der Aufnahme von Wasserdampf durch Pflanzenteile finden sich in der Literatur einige Angaben.

Detmer (1877), fand, daß Weizenblätter, die vorher bei 100° C getrocknet waren, im dampfgesättigten Raum an Gewicht zunahmen. Ebenso nahmen Blätter einer vertrockneten *Helianthus tuberosus*-Pflanze aus einer nicht völlig wasserdampfgesättigten Atmosphäre Wasser auf; dagegen erfuhren nicht so stark ausgetrocknete Blätter von *Triticum sativum*, *Cucurbita Melopepo*, *Cyperus Papyrus* und *Ludolfia glaucescens* in einer Wasserdampfatmosphäre keine Gewichtserhöhung. In späteren Versuchen beobachtete Detmer (1879) ein verschiedenes Verhalten verschiedener Pflanzenarten; die Flechten *Evernia furfuracea*, *Bryopogon jubatus* und *Ramelina*, welche unter den natürlichen Bedingungen ihres Standorts ausgetrocknet waren, vermochten Wasserdampf zu kondensieren. Es kann also nach Detmers Ansicht dampfförmiges Wasser nur von sehr weit ausgetrockneten Blättern aufgenommen werden. Die gleiche Ansicht teilte auch Pfeffer (1897), der feststellen konnte, daß *Catharinea undulata* nach 12 Tage langem Aufenthalt in einer wasserdampfgesättigten Atmosphäre nicht den Zustand voller Turgescens erreicht hatte. Daß Pflanzenteile nur in stark ausgetrocknetem Zustand Wasser aufnehmen können, erklärt sich nach Pfeffers Ansicht dadurch, daß eine „gewaltige Oberflächenenergie" zur Auslösung dieses Vorganges erforderlich ist. „In dem Maße, wie diese abnimmt, verläuft die fernere Wasseraufnahme nur langsam" (S. 144). In neuester Zeit ist die Frage der Wasserdampfaufnahme von Mägdefrau (1931) und Vassiljev (1931) untersucht worden. Mägdefrau stellte fest, daß Laubmoose fähig sind, „Wasserdampf aufzunehmen, nicht nur aus dampfgesättigter Luft, sondern auch aus ungesättigter" (S. 447). Mit den übereinstimmenden Beobachtungen von Detmer, Pfeffer (1897) und Mägdefrau stehen auch unsere Befunde im Einklang. Dagegen fand in den Versuchen von Vassiljev an abgeschnittenen Laubtrieben von verschiedenen Pflanzen im Exsikkator über Wasser während der Nacht kein Gewichtszuwachs, sondern ein Gewichtsverlust statt, der von Vassiljev als Atmungsverlust gedeutet wird. Dieses Ergebnis, daß die Laubtriebe aus dampfgesättigter Atmosphäre kein Wasser aufnehmen, erklärt sich einmal aus der Verschiedenheit der Objekte, dann aber vor allem aus dem geringeren Austrocknungsgrade.

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Die Entstehung sichtbarer Schäden als Folge der Einwirkung schwefliger Säure hängt ab von der Konzentration des Gases, von der Dauer der Einwirkung, den äußeren Faktoren und besonders von der individuellen Beschaffenheit der Pflanze. Daher ist es unmöglich, auch für eine Pflanzenart allgemein gültige Grenzkonzentrationen, unterhalb derer unter keinen Umständen sichtbare Schädigung der Blattsubstanz erfolgt, anzugeben, obschon es an Versuchen dieser Art nicht gefehlt hat. In der Rauchschadenliteratur finden sich deshalb sehr widersprechende Angaben.

Nach Wieler sollen durchschnittliche Konzentrationen von 1 : 40000 für krautige Pflanzen bei 8 bis 10 Stunden langer Einwirkung unschädlich sein. Er beobachtete Beschädigungen in gleichen Zeiträumen bei Mais bei 1 : 10000, beim Roggen schon bei 1 : 20000. Bei *Phaseolus vulgaris* verursachte die Konzentration von 1 : 108000 bei zehnstündiger Begasung schon Blattfleckenbildung. Eine noch viel höhere Empfindlichkeit soll dem Rotklee nach Angaben von Niggemeyer (1915) zukommen. In seinen Versuchen soll schon eine SO_2-Konzentration von 1 : 250000 nach dreimaliger Begasung von je zirka 2,5 Stunden Dauer die Entstehung grauer Flecken auf den Blättern herbeigeführt

haben. Niggemeyer führt einen einzigen Versuch an. In etwa 2000 Einzelversuchen mit Konzentrationen dieser Art, die von uns ausgeführt sind, wurden niemals, selbst nicht bei empfindlichsten Kleesippen derartige Folgen gesehen. Daher muß angenommen werden, daß Niggemeyer ein Irrtum bei der Dosierung unterlaufen ist. Die nur flüchtig mitgeteilten Versuche von Bethge (1930) am „Sternmoos“ *Mnium* (sic!) und an Petersilienkeimpflanzen gestatteten wegen Inkonstanz der Verhältnisse und Fehlen der Kontrollen keinerlei Schlüsse. Für die Peridermbildung bei Kartoffelscheiben hält Börger (1930) eine SO_2-Konzentration von 1 : 100 000 für indifferent. Nach einer Angabe von Wislicenus (1914), deren experimentelle Unterlagen allerdings mir nicht bekannt sind, soll eine SO_2-Konzentration von 1 : 100 000 bei starker Beleuchtung fast alle Pflanzen in wenigen Minuten töten, eine solche von 1 : 25 000 jede Pflanze in Sekunden auch in diffusem Licht. Noack (1930) beobachtete Ausbleichungserscheinungen an Gerstenblättern bei im Dunkeln vorgenommener Begasung von 1 ccm schwefliger Säure von der Konzentration 4,43 % bei $1^1/_2$ stündiger Vergiftungsdauer nach 11 Stunden im Lichte, bei $^3/_4$ stündiger Einwirkung nach 15 Stunden. Eine Behandlung derselben Objekte mit 0,25 ccm schwefliger Säure von der gleichen Konzentration hatte Ausbleichungen bei $1^1/_2$ stündiger Begasung nach 12, bei $^3/_4$ stündiger Begasung nach 20 Stunden zur Folge. Eine Dosis von 10 ccm 4,43 prozentiger schwefliger Säure verursachte sofortiges Absterben und Bildung brauner Flecken. Leider läßt sich über die angewandte Konzentration keine Vorstellung gewinnen, da die Größe des Versuchsgefäßes nicht angegeben ist. Auch aus Wehners (1928) Angaben über die Wirkung schwefliger Säure auf den Klee läßt sich nicht die absolute Höhe des SO_2-Gehaltes ersehen, da dieser Autor eine wässrige Lösung der schwefligen Säure benutzte und nicht festzustellen ist, wieviel SO_2 unter den Verhältnissen seiner Versuche aus der Lösung in die Atmosphäre gelangte. Bei Flury-Zernik (1931) findet sich eine Tabelle, die zum Vergleich mit der auf Grund unserer Erfahrungen aufgestellten (Tabelle 4) hier wiedergegeben sei.

Pflanze	Konzentration in Vol.	Eintritt der Schädigung nach Tagen	Konzentration in Vol.	Eintritt der Schädigung nach Tagen
Klee und Gerste. .	1 : 13 300—11 900	17	1 : 6 320 – 5 750	5
Weizen und Roggen	1 : 13 300 – 11 900	19	1 : 6 320—5 750	6
Hafer	1 : 13 300—11 900	21	1 : 6 320 – 5 750	7
Kartoffeln und Rüben	1 : 13 300—11 900	27	1 : 6 320—5 750	8
			nach Flury-Zernik	

Zur besseren Vergleichbarkeit der Angaben vorstehender Tabelle mit den nach unseren Erfahrungen gemachten Angaben sind für die Konzentration statt der Volumen-Prozentzahlen die aus letzteren errechneten Verhältnisse eingesetzt.

Es sind einzelne der vielen in der Literatur sich findenden Angaben dieser Art mitgeteilt, um einen Vergleich mit den diesbezüglichen Beobachtungen bei unseren Versuchen zu ermöglichen.

Das Verhalten verschiedener Pflanzen auch derselben Art kann äußerst verschieden sein. Ein Beispiel hierfür bietet die Pflanze S 15, deren Blätter nach Begasung mit solchen Konzentrationen, die andere Kleepflanzen sichtbar schädigten, völlig ihr normales Aussehen behalten haben.

Feste Resistenzunterschiede zwischen den verschiedenen Kleeherkünften ließen sich, wie bereits erwähnt, in unsern Versuchen nicht

feststellen, wie es bei der großen genetischen Heterogenität und der dadurch bedingten Variationsbreite nur natürlich ist. Von besonderer Härte gegenüber Einwirkungen der schwefligen Säure erwies sich dagegen die Pflanzengruppe „Schwerin", die ja die Nachkommenschaft von Pflanzen ist, die schon in rauchgeschädigten Feldern des Industriegebietes durch ihren hohen Immunitätsgrad aufgefallen waren.

Die individuelle Resistenz kann bei gleichem Genotypus phänotypisch variieren, sie kann aber auch auf genotypischen Unterschieden beruhen. Auf eine erbliche Fixierung der Resistenz deutet z. B. das Verhalten der Herkunft „Schwerin", besonders der Pflanze S 15, hin, deren verschiedene Blätter in allen Versuchen immer dieses Merkmal in hohem Grade zeigten. Nach diesen Beobachtungen darf eine Züchtung auf Rauchresistenz als nicht aussichtslos gelten, was hinsichtlich der landwirtschaftlichen Rauchschäden von ziemlicher Bedeutung wäre, gerade für den aus betriebswirtschaftlichen Gründen so wichtigen und schwer ersetzbaren Rotklee. Neben der erblichen Variabilität spielt für den individuellen Resistenzgrad die Modifikabilität eine große Rolle. Als modifizierende Faktoren haben zu gelten u. a. Alterszustand der Blätter, Standortsbedingungen und Lichtverhältnisse.

Daß, wie die Resistenz gegen SO_2, auch die Intensität der Transpiration für jedes Individuum charakteristisch ist, wurde schon früher erwähnt. Von Interesse ist die in unseren Versuchen fast ausnahmslos gefundene Beziehung zwischen diesen beiden Merkmalen. In fast allen Versuchen, wo nach Grad der sichtbaren Schäden sich eine Resistenzreihe aufstellen ließ, ergab sich eine Korrelation zwischen hoher Resistenz und geringer Transpirationsintensität. Besonders deutlich war diese Korrelation wieder bei der Pflanze S 15, deren niedrige flächenrelative Transpiration ebenso auffällig war wie ihre große Widerstandskraft gegen Einwirkungen der schwefligen Säure. Aber auch da, wo die Unterschiede nicht so groß waren, und wo die geringe Transpirationskraft nicht als Eigentümlichkeit der Pflanze sondern nur des betreffenden Blattes gelten mußte, war sie mit erhöhter Resistenz verbunden. Empfindlichkeit und Intensität der Transpiration laufen parallel. Daß die hier angedeutete Korrelation allgemein besteht, ist wahrscheinlich. Diese Frage müßte jedoch an einem noch größeren Material nachgeprüft werden. Sollte sich diese Korrelation bestätigen, so wäre also die individuelle Transpirationsgröße ein Maß der Resistenz und vielleicht sogar überdies eine ihrer Ursachen. Dann aber gewährte dieser Umstand einen Hinweis auf die Wichtigkeit der Transpirationsveränderung bei der Beurteilung der Pathogenität der schwefligen Säure.

Einen Schlüssel zum Verständnis dieses Verhaltens liefert eine ebenfalls an S 15 gemachte Beobachtung. Es vergrößerte sich ja, wie bei Besprechung der betreffenden Versuche bereits angegeben, der auffällige

Unterschied in der Transpirationsintensität zwischen S 15 und anderen Pflanzen mit steigendem Dampfdruckpotential. Hierdurch wurde nahegelegt, anzunehmen, daß dieser Pflanze in hervorragender Weise die Fähigkeit zukäme, auf transpirationssteigernde Kräfte mit Erhöhung der inneren Widerstände zu reagieren. Damit wäre ohne weiteres auch die höhere SO_2-Resistenz dieser Pflanze verständlich, insofern, als sie auch dieser transpirationssteigernden Wirkung gegenüber stärkere Widerstände einzuschalten vermöchte und so die Gefahr eines übermäßigen Wasserverlustes verringerte.

Die Art der Einwirkung der schwefligen Säure auf die Transpiration ist grundsätzlich verschieden nach der Konzentration des Gases, nach der Dauer der Einwirkung sowie der individuellen Eigenart der Pflanzen.

Eine Depression der Wasserabgabe der begasten Objekte, ausgedrückt in dem Sinken des relativen Transpirationswertes, wurde in unseren Versuchen fast nur beobachtet, wenn gleichzeitig das begaste Blatt mehr oder weniger sichtbar geschädigt war. Dagegen war umgekehrt nicht bei allen Blättern mit äußeren Schäden auch die Wasserabgabe relativ kleiner als die der Vergleichsobjekte; im Gegenteil wurde manchmal auch dann noch ein größerer Wasserverlust begaster Blätter festgestellt. In der großen Mehrzahl unserer Versuche wurde dagegen die Transpiration durch die schweflige Säure, solange diese noch keine sichtbaren Veränderungen des Blattes bewirkte, gesteigert. Eine Herabsetzung der Wasserabgabe begaster, doch nicht sichtbar geschädigter Blätter in der ersten Begasungsperiode ist nur ganz ausnahmsweise zu beobachten. Daß aber selbst mehr oder weniger beschädigte Blätter noch eine erhöhte Wasserabgabe zeigen, beweist, daß der schwefligen Säure selbst in hohen, sichtbar schädigenden Konzentrationen nicht ohne weiteres eine deprimierende Wirkung zuzuschreiben ist.

Überblickt man die Ergebnisse der mitgeteilten Untersuchungen, so lassen sich als verschiedene Formen der Wirkung der schwefligen Säure auf die Transpiration feststellen: 1. Herabsetzung der Wasserabgabe bei äußerer Schädigung der Blätter, 2. Erhöhung der Wasserabgabe mit der Folge sichtbarer Blattschäden, 3. Transpirationssteigerung an intakten Blättern bei niedrigen Konzentrationen.

Zu 1. Daß die Wasserabgabe äußerlich mehr oder weniger geschädigter Blätter kleiner ist als die gesunder, darf nicht als durch die schweflige Säure hervorgerufene Transpirationsherabsetzung gedeutet werden; vielmehr ist sie als Folge der sichtbaren Blattschädigung anzusehen. Die Schäden bestehen doch darin, daß größere oder kleinere Gewebepartien des Blattes absterbend vertrocknen, dann aber aus dem Transpirationsprozeß ausscheiden, da ein weiterer Nachschub von Wasser in sie hinein mit Zerstörung ihres osmotischen Potentials aufhört. Wenn der Anteil derart zerstörter Blattflächen einen bestimmten Grad erreicht, kann selbst

bei etwa gesteigerter Transpiration der noch intakten Partien eine im ganzen niedrige Wasserabgabe resultieren, deren Ursache jedoch nicht eigentlich verhinderte Transpirationsintensität, sondern Verkleinerung der transpirierenden Fläche ist.

Zu 2. Während des Vertrocknungsprozesses beschädigter Blätter findet natürlich ein erhöhter lethaler Wasserverlust statt, dessen Intensität den der normalen Transpiration leicht übertreffen kann. Unter lethalem Wasserverlust soll hier ein solcher verstanden werden, der an einer im Absterben begriffenen Zelle stattfindet, wobei unberücksichtigt bleibe, wie weit die Steigerung der Wasserabgabe selbst sekundär zur Todesursache werden kann.

Es sind demnach auch hier zwei Phasen zu unterscheiden: Erhöhte lethale Wasserabgabe der vertrocknenden Gewebeteile, stark herabgesetzte nach Beendigung des Welkeprozesses. Daneben steht die Transpiration des noch intakten Blattareals. Ist die lethale Wasserabgabe welkender, SO_2-geschädigter Blätter bei Ende des Wägungsintervalls noch nicht oder gerade erst beendet, so muß eine erhöhte Wasserabgabe gefunden werden, eine niedrigere dann, wenn eine mehr oder weniger lange Zeit vor Versuchsende der Vertrocknungsprozeß zum Abschluß gekommen ist und damit die ausgetrockneten Blattstellen aus dem Verdunstungsvorgang ausgeschieden sind. Ob eine erhöhte oder erniedrigte Wasserabgabe schon sichtbar geschädigter Blätter gemessen wird, hängt somit ab von der Länge des Wägungsintervalles sowie dem Anteil abgestorbener Flächen an dem Gesamtareal des ganzen Blattes.

Zu 3. Die Beeinflussung „gesunder“ Blätter besteht nach den Ergebnissen unserer Versuche bei niedrigen, aber überhaupt noch wirksamen SO_2-Konzentrationen in einer Transpirationssteigerung. Das auch über lange Zeit erhalten bleibende normale Aussehen der Blätter beweist, daß es sich hier keinesfalls um eine Erhöhung der Wasserabgabe infolge praelethaler Vorgänge, sondern um Steigerung der wirklichen Transpiration handelt. Dabei ist jedoch die Möglichkeit zuzugeben, daß dieser letzte Vorgang bei ungenügendem Ersatz des transpirierten Wassers zu einer Vertrocknung, also zu lethalem Wasserverlust führen könnte. Eine Steigerung der Wasserabgabe wird durch die schweflige Säure in einem großen Konzentrationsbereich verursacht. Wie die Versuche an ausgestanzten Blattstückchen zeigten (vgl. Tabelle 10), bewirken auch hohe Konzentrationen zunächst einen Transpirationsanstieg. Die Stimulation geht, wie die späteren Versuche zeigten, dann bei Auftreten sichtbarer Schädigungen früher oder später in die unter 1. geschilderte „Depression“ über. Bei niedrigen, nicht sichtbar schädigenden Konzentrationen bleibt dagegen die relative Wasserabgabe erhöht.

Ein Schädigungsvorgang verläuft demnach in drei Phasen: 1. Steigerung der wirklichen Transpiration, 2. lethale Erhöhung der Wasserabgabe

und Beginn des Welkens, 3. Absinken des Wasserverlustes, nachdem ein bestimmter Grad der Schäden erreicht ist. Die zeitliche Dauer der drei Phasen dieses Schemas ist von der Höhe der SO_2-Konzentration, der Empfindlichkeit des Objektes und den Außenfaktoren abhängig. Je höher die Konzentration bei Einwirkung der schwefligen Säure, je geringer die Resistenz der betreffenden Pflanze ist und je mehr die Außenfaktoren den Beschädigungsvorgang begünstigen, in um so kürzerer Zeit werden die ersten beiden Phasen durchlaufen und wird die dritte erreicht. Dabei ist möglich, daß bei sehr hohem SO_2-Gehalt und dadurch augenblicklich eintretender Schädigung von Gewebeelementen die Dauer der ersten Phasen sehr verkürzt wird und diese somit leicht der Beobachtung entgehen können. Die Bedeutung der Versuchsdauer für das Ergebnis des Transpirationsversuches ist demnach evident. Wenn alle drei Phasen durchlaufen werden, hängt es von der Länge des Wägungsintervalles ab, welche von ihnen erfaßt wird, und davon, ob eine Erhöhung oder Erniedrigung der Transpiration durch die schweflige Säure festgestellt wird. Bei langer Beobachtungsdauer, in welcher der Anteil der dritten Phase vorherrschend ist, kann also eine Erniedrigung der Wasserabgabe festgestellt werden, während im gleichen Fall bei einem kürzeren Wägungsintervall, das vor Beginn der dritten Phase beendet worden wäre, sich eine Steigerung der Transpiration ergeben hätte. Andererseits kann bei Konzentrationen unter einem bestimmten Grenzwert die dritte oder auch die dritte und zweite Phase überhaupt nicht erreicht werden. Der obere und untere Grenzwert solcher nur stimulatorisch wirkender Konzentrationen ist ebenso wenig ein absoluter wie derjenige der giftigen und ist in seiner Variationsbreite durch die nämlichen Bedingungen bestimmt. Unter Stimulation soll hier aber lediglich die Steigerung einer physiologischen Funktion, der Transpiration, verstanden werden, nicht eine Förderung der Pflanze. Ob eine solche als Folge erhöhter Transpiration erfolgt oder ob dieser Vorgang der Pflanze nachteilig wird, hängt ganz von den jeweiligen Außenbedingungen ab. Unter Verhältnissen mangelnder Wasserversorgung kann in der freien Natur eine durch Rauchgase bewirkte Transpirationssteigerung zu einer Gefahrenquelle für die Pflanze werden. Mit dieser Überlegung im Einklang steht die von Grohmann (1910) gemachte Beobachtung erhöhter Rauchresistenz von Waldbäumen an wasserreichen Standorten gegenüber solchen auf trocknen Lagen. Andererseits wird sich gesteigerte Transpiration auf Böden, deren Wassergehalt den zusätzlichen Transpirationsverlust mühelos zu kompensieren vermag, in einer gesteigerten Nährstoffaufnahme auswirken.

Die schematische Darstellung der Wirkung der schwefligen Säure auf die pflanzliche Transpiration läßt auch die den unseren entgegengesetzten Ergebnisse, die sich in der Rauchliteratur finden, verständlich erscheinen. In den Versuchen sowohl v. Schröders als auch in denjenigen von

Neger und Lakon, die eine Herabsetzung der Wasserabgabe durch hohe SO_2-Konzentrationen bei gleichzeitiger sichtbarer Schädigung der Versuchspflanzen ergaben, wurde nur die dritte Phase der Gaswirkung erfaßt, die Depression der Verdunstung als Folge des vorhergegangenen lethalen Wasserverlustes eines mehr oder minder großen Anteils der transpirierenden Fläche. Auch die von Neger und Lakon gegebene schematische Darstellung des Verlaufs der Transpirationskurve unter dem Einfluß hoher SO_2-Konzentrationen gilt nur für die dritte und zweite Phase. Ebenfalls für Olivers Befund eines starken Rückgangs der Wasseraufnahme, die von ihm irrtümlich mit der Wasserabgabe als identisch angesehen wird, darf das gleiche gelten; als letzte Phase der Einwirkung schädigender Gase auf die Wassersaugung kann ihre mehr oder weniger völlige Sistierung nach Zerstörung des osmotischen Potentials gelten. Wie die Einwirkung in den vorhergehenden Phasen verläuft, läßt sich dagegen nicht ohne weiteres aus dem Verlauf der Transpiration sagen. Vermutlich aber entspricht der Erhöhung der Wasserabgabe in der zweiten Phase kein Anstieg der Wasseraufnahme. Daß der Stimulation der Wasserabgabe der ersten Phase auch eine solche der Wasseraufnahme entspricht, ist schon aus dem Gleichbleiben der Stimulation bei langer Versuchsdauer zu erschließen.

Somit ist als eine primäre Wirkung der schwefligen Säure eine Erhöhung der Transpiration anzusehen. Die Ursachen einer Veränderung der Transpiration durch die schweflige Säure sind sowohl physikalischer als auch physiologischer Natur. Durch die Anwesenheit von Fremdgasen werden die Evaporationsverhältnisse verändert. Der Gesamtgasdruck über einem verdunstenden System erhöht sich bei Anwesenheit eines anderen Gases um dessen Partiärdruck; die Folge hiervon ist an sich ein Sinken des Diffusionskoeffizienten und eine Herabsetzung der Verdunstungsgeschwindigkeit. Aus der Wasserlöslichkeit der schwefligen Säure ergibt sich aber eine Komplikation: Wenn nämlich eine bestimmte Menge SO_2 in Lösung geht, muß sich der Partiärdruck dieses Gases entsprechend vermindern. Gleichzeitig erniedrigt sich aber auch der Dampfdruck des Wassers, das die schweflige Säure gelöst hat.

Bei den geringen Konzentrationen, die in unseren Versuchen zur Anwendung kamen, konnte diese Wirkung von nur so geringer Bedeutung sein, daß sie der Größenordnung nach neben den physiologischen Veränderungen verschwand. Letztere sind in einer Verminderung der Transpirationswiderstände zu sehen und zwar der stomatären oder der hydratischen, mit welch letzteren im Anschluß an Seybold (1931), jedoch mit einer geringen Abweichung von seiner Umgrenzung dieses Begriffs, die Gesamtheit der inneren physiologischen Widerstände bezeichnet seien.

Für eine Herabsetzung der stomatären Transpirationswiderstände, womit hier eine Vergrößerung der Spaltenapertur gemeint werden soll, sprechen Beobachtungen von Neger und Lakon (1914), Wieler (1905),

Oliver (1893) und Schwartz (1927), welche feststellen konnten, daß auch bei Einwirkung hoher Konzentrationen kein Spaltöffnungsschluß eintritt, ja daß die Stomata rauchgeschädigter Teile von verschiedenen Objekten sogar weiter geöffnet sind als diejenigen an gesunden Vergleichspflanzen. Auch in unseren Versuchen wurden einige Beobachtungen, die hierzu in Einklang stehen, gemacht; über sie soll an anderer Stelle berichtet werden.

Für die Herabsetzung der hydratischen Widerstände kann schon eine v. Schrödersche Beobachtung angeführt werden. Er berichtet (1872, S. 334): „Es schien, als ob die Zellwände durch Einwirkung der schwefligen Säure die Fähigkeit verlieren, das in ihnen und den Zellen enthaltene Wasssr zurückzuhalten . . .“ In die gleiche Richtung scheinen die vor allem von v. Schröder, Wieler, Neger und Lakon und Haselhoff und Lindau beobachteten und ausführlich beschriebenen Injektionen zu deuten. Diese Erscheinungen, in unseren Versuchen allerdings nie beobachtet, haben, soweit aus den verschiedenen, sich in Einzelheiten zum Teil widersprechenden Ansichten hervorgeht, darin ihre Ursache, daß Wasser aus den Zellen des Blattinnern aus- und in die Interzellularen eintritt und dadurch einzelnen Blattstellen den Eindruck verleiht, als ob sie mit Wasser infiltriert wären. Es sprächen somit auch die Injektionen für eine Erhöhung der Wasserpermeabilität des Plasmas. Zu dem gleichen Schluß sind wir auf einem ganz anderen Wege gekommen: Bis zu einem gewissen Grade ausgetrocknete aber noch lebende Blattstückchen vermögen aus Luft von hohem Feuchtigkeitsgehalt Wasser in Dampfform aufzunehmen. Diese Aufnahme von Wasserdampf wird durch Wirkung der schwefligen Säure gesteigert. Dieser Vorgang wird durch folgende Vorstellung erklärlich: Wenn ein Blattstückchen von einem bestimmten Austrocknungsgrad in eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre gelangt, entsteht ein Dampfdruckgefälle zwischen der Außenluft und dem Blattinnern mit dem umgekehrten Vorzeichen, wie wenn ein Blatt mit ungehemmter Wasserzufuhr sich in Luft geringeren Dampfdruckes befindet. Dem Ausgleich des Potentials stehen die Widerstände, welche die Blattepidermen dem Durchtritt des Wasserdampfes bieten, entgegen. Ein Eintritt von Wasserdampf muß erfolgen, wenn der Wert des Potentials denjenigen der Widerstände übertrifft. Ist dies der Fall, so erfolgt eine Aufnahme von Wasserdampf in das Blatt und zwar so lange, bis Dampfdruckpotential und die seinem Ausgleich entgegenstehenden Widerstände miteinander im Gleichgewicht sind. Wird nun durch Zufuhr kleiner SO_2-Mengen unter Einfluß dieses Gases eine weitere Menge Wasserdampf aufgenommen, so muß, sofern das Dampfdruckpotential unverändert bleibt, die Größe der von den Epidermen ausgeübten Widerstände durch die schweflige Säure verringert sein, d. h. die Wasserpermeabilität der Blattwände muß sich vergrößert haben. Da für die Transpiration die Verhältnisse ebenso liegen,

mit dem einzigen Unterschied, daß das Dampfdruckgefälle Außenluft—Blattsystem entgegengesetzt gerichtet ist, kann die angeführte Beobachtung als Hinweis auf die Verringerung der Transpirationswiderstände und zwar wahrscheinlich der hydratischen betrachtet werden.

Wenn wir hierin eine wesentliche Wirkung der schwefligen Säure auf den pflanzlichen Organismus erblicken, so ergibt sich als nächste zu lösende Aufgabe die Untersuchung, ob diese Einwirkung auf die Transpiration den Veränderungen anderer physiologischer Funktionen koordiniert ist, ob sie ihnen vorhergeht oder gar erst folgt.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die Kurve der Wasserabgabe ausgestanzter Blattstückchen sinkt von Anfang an kontinuierlich mit abnehmender Steilheit.
2. Die Größe des Transpirationsabfalls hängt von den die Transpiration beeinflussenden Außenfaktoren und der seit Versuchsbeginn verstrichenen Zeit ab.
3. Die Wasserabgabe ausgestanzter Blattstückchen besteht aus a) der wirklichen Transpiration, b) dem durch die Wundrandwirkung bedingten Wasserverlust; der Anteil des letzteren an der Gesamtwasserabgabe hängt ab von dem Verhältnis des Wundrandes zur Gesamtfläche und vom Grade der Austrocknung.
4. Die flächenrelative Transpiration ergibt einen höheren Wert, wenn sie aus dem Wasserverlust eines Blattstückchens als aus demjenigen eines ganzen Blattes ermittelt ist.
5. Verschiedene Blätter derselben Pflanze transpirieren flächenrelativ ungleich stark.
6. Bei Callisia transpirieren die älteren Blätter stärker als die jüngeren. Dies gilt mit geringerer Sicherheit auch für den Rotklee.
7. Gleich große Blattstückchen desselben Blattes weichen in der Größe ihrer Transpiration oft voneinander ab.
8. Die Wirkung schwefliger Säure auf Blätter zeigt sich außer der Beeinflussung anderer Funktionen auch in einer solchen des Wasserhaushalts.
9. Der Einfluß der schwefligen Säure manifestiert sich in einer Steigerung oder Hemmung der Wasserabgabe.
10. Eine Steigerung der Wasserabgabe findet statt zufolge einer Stimulierung der echten Transpiration durch niedrige Gasdosen.
11. Steigerung der Wasserabgabe findet auch statt, wenn durch höhere SO_2-Konzentrationen eine Vergiftung des Protoplasten herbeigeführt wird, welche lethalen Wasseraustritt aus der Zelle zur Folge hat.
12. Eine Depression erscheint als sekundäre Wirkung hoher Gaskonzentrationen infolge Ausfalls transpirierender Flächen nach deren Zerstörung.

13. Zeitlich verläuft die Einwirkung der schwefligen Säure auf die Wasserabgabe in drei Phasen: 1. Stimulation der wirklichen Transpiration, 2. lethale Erhöhung der Wasserabgabe, 3. Erniedrigung derselben nach Zerstörung des osmotischen Potentials und Beendigung des Vertrocknungsvorganges.
14. Welche Phase im Einzelfall beobachtet wird, hängt ab von der individuellen Resistenz, der Höhe der SO_2-Konzentration, der Dauer der Einwirkung und den Außenfaktoren.
15. Die zweite und dritte Phase der Gaswirkung werden nur bei Einwirkung von SO_2-Konzentrationen oberhalb einer für jeden Einzelfall bestimmten Grenze erreicht.
16. Der Grad der SO_2-Resistenz und der Transpirationsintensität sind jedem Individuum eigentümliche Merkmale; diese können rein phänotypisch sein, aber auch auf erblicher Verschiedenheit beruhen.
17. Nach den Versuchsergebnissen ist es wahrscheinlich, daß zwischen hoher Rauchresistenz und spezifischer Fähigkeit, erhöhte Transpirationswiderstände einzuschalten, eine Korrelation besteht.
18. Lebende Blätter von hohem Wasserdefizit nehmen aus feuchter Atmosphäre dampfförmiges Wasser auf. Diese Aufnahme kann durch Einwirkung kleiner Mengen schwefliger Säure gesteigert werden.

Vorliegende Untersuchung ist im botanischen Institut der Universität Münster unter der Leitung von Herrn Prof. Heilbronn ausgeführt und von der Philosophischen und Naturwissenschaftlichen Fakultät als Dissertation angenommen. Herrn Prof. Heilbronn sage ich für die Anregung und die stets hilfsbereite Förderung der Arbeit auch an dieser Stelle aufrichtigen Dank. Auch Herrn Prof. Benecke danke ich an dieser Stelle aufrichtig für das meiner Arbeit stets entgegengebrachte Interesse und für die freundliche Überlassung eines Arbeitsplatzes.

Literatur.

Arland, A., 1929, Zur Methodik der Transpirationsbestimmung am Standort. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 47, S. 474.

Bergerhoff, H., 1928, Untersuchungen über die Berg- und Rauchschädenfrage mit besonderer Berücksichtigung des Ruhrbezirks. Bonn.

Bethge, H., 1930, Beiträge zur Frage der Empfindlichkeit von Blättern gegen schweflige Säure. Kleine Mitteilungen für die Mitglieder des Vereins für Wasser-, Boden- und Lufthygiene, 6. Jahrg., S. 224.

Börger, H., 1930, Wundepidermbildung von Kartoffeln unter dem Einfluß schwefliger Säure. Ebenda.

Borggreve, B., 1895, Waldschäden im oberschlesischen Industriebezirk nach ihrer Entstehung durch Hüttenrauch, Insektenfraß usw. Frankfurt.

Burgerstein, A., 1904, 1920, 1925, Die Transpiration der Pflanzen. I., II. und III. Jena.

Detmer, W., 1877, Beiträge zur Theorie des Wurzeldrucks. Jena.

Detmer, W., 1879, Physiologisch-biologische Untersuchungen über die Wasseraufnahme seitens der Pflanzen. Journal für Landwirtschaft. XVII. Jahrg., S. 91.

Döpp, W., 1931, Über die Wirkung der schwefligen Säure auf Blütenorgane. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft 49, S. 173.

Firbas, F., 1931, Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Hochmoorpflanzen. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. 74, S. 459.

Flury, F. und Zernik, F., 1931, Schädliche Gase. Berlin.

Gerlach, R., 1914, Der Ursprungsnachweis der Rauchschäden in den an Baumstämmen abfließenden Niederschlagswässern mittels eines selbsttätigen Separators und der Einfluß dieses sauren Wassers auf den Boden. Sammlung von Abhandlungen über Abgase und Rauchschäden, Heft 9. Berlin.

Grohmann, Th., 1910, Erfahrungen und Anschauungen über Rauchschäden im Walde und deren Bekämpfung. Wislicenus, Sammlung von Abhandlungen über Abgase und Rauchschäden, Heft 6. Berlin.

Hartig, R., Über die Wirkung des Hütten- und Steinkohlenrauches auf die Gesundheit der Nadelholzbäume. Forstl.-Naturw. Zeitschrift 1896.

Haselhoff, E. und Lindau, G., 1903, Die Beschädigung der Vegetation durch Rauch Berlin.

Heilbronn, A., 1930, Über die physiologische Wirkung der Industriegase auf Pflanzen. Forschungen und Fortschritte, 6, S. 392.

Höhn, R., 1931, Über die Einwirkung von Gasen und Dämpfen auf Pflanzen. Dissertation, Würzburg.

Iwanoff, L., 1928, Zur Methodik der Transpirationsbestimmung am Standort. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, Bd. 46, S. 306.

Kamp, H., 1930, Untersuchungen über Kutikularbau und kutikuläre Transpiration von Blättern. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. 72, S. 403.

Mägdefrau, K., 1931, Untersuchungen über die Wasserdampfaufnahme der Pflanzen. Zeitschrift für Botanik, B. 24, S. 417.

Mittmeyer, G., 1931, Studien über die Abhängigkeit der Transpiration verschiedener Blattypen vom Licht und Sättigungsdefizit der Luft. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. 74, S. 364.

Nägeli, C. von, 1879, Theorie der Gärung. München.

Neger, F. W. und Lakon, G., 1914, Studien über den Einfluß von Abgasen auf die Lebensfunktionen der Bäume. Mitteilungen aus der Königl. Sächs. forstl. Versuchsanstalt zu Tharandt, Bd. 1. Berlin. S. 177.

Niggemeyer, H., 1915, Die Beschädigung der Vegetation durch Rauch. Veröffentlichungen der Landwirtschaftskammer für die Provinz Westfalen, Heft 21.

Noack, K., 1929, Untersuchungen über die Rauchschäden der Vegetation. Zeitschrift für angewandte Chemie, Bd, 42, S. 123.

Noack, K., 1930, Über das Chloroplasteneisen. Zeitschrift für Botanik, 23, S. 957.

Oliver, F., 1893, On the effects of urban fog upon cultivated plants. The Journal of the Roy. Hortic. Soc., Part I, Vol. XVI, S. 1. London.

Pfeffer, W., 1897, Pflanzenphysiologie, 1. Bd. Leipzig.

Reich, A., 1917, Leitfaden für die Rauch- und Rußfrage. München-Berlin.

Schratz, E., 1931, Vergleichende Untersnchungen über den Wasserhaushalt von Pflanzen im Trockengebiete des südlichen Arizona. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. 74, S. 153.

Schröder, J. von, 1872, Die Einwirkung der schwefligen Säure auf die Pflanzen. Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen, Bd. XV.

Schwartz, H., 1927, Zur Beeinflussung des Wachstums durch gasförmige und flüssige Reizstoffe. Flora 122. S. 76.

Seybold, A., 1929, Die physikalischen Komponente der pflanzlichen Transpiration. Berlin.

Seybold, A., 1929a und 1930, Die pflanzliche Transpiration I und II. Ergebnisse der Biologie. 5 und 6.

Seybold, A., 1931, Weitere Beiträge zur Transpirationsanalyse. Planta, Bd. 14, S. 386.

Seybold, A. und van der Wey, H. G., 1929, Untersuchungen über iso- und heterocalorische Laubblätter. Rec. Trav. bot. néerl., Bd. 26. S. 97.

Sorauer, E., 1909, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. I. Bd. Berlin.

Sorauer, E. und Ramann, E., Sogenannte unsichtbare Rauchbeschädigungen. Botan. Centralblatt, 1899, Bd. LXXX. S. 50.

Stern, K., Bünning, E. und Wolodkewitsch, N., Zur Methodik von Elektrokulturversuchen. Planta 1930, Bd. 11. S. 45.

Stocker, O., 1929, Eine Feldmethode zur Bestimmung der momentanen Transpirations- und Evaporationsgröße. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, Bd. 47, S. 126.

Stocker, O., Transpiration und Wasserhaushalt in verschiedenen Klimazonen. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. 75, 1931, S. 494.

Stoklasa, Die Beschädigungen der Vegetation durch Rauch- und Fabrikexhalationen. Berlin-Wien, 1923.

Vassiljev, J., 1931, Über den Wasserhaushalt von Pflanzen der Sandwüste im südöstlichen Kara-Kum. Planta 14, S. 225.

Wehner, O., 1928, Untersuchungen über die chemische Beeinflußbarkeit des Assimilationsapparates. Planta 6, S. 543.

Wieler, A., 1905, Untersuchungen über die Wirkung schwefliger Säure auf die Pflanzen. Berlin.

Wislicenus, H., 1898, Resistenz der Fichte gegen saure Rauchgase bei ruhender und tätiger Assimilation. Tharandter forstl. Jahrbücher, Bd. 48, S. 152.

Wislicenus, H., 1914, Experimentelle Rauchschäden. Sammlung von Abhandlungen über Abgase und Rauchschäden, Heft 10.

Wobst, A., 1925, Die Hüttenrauchkrankheit im Freiberger Bezirk. Leipzig.

Beiträge zur Kenntnis der Fußkrankheiten des Getreides.
(I. Mitteilung).

Cercosporella herpotrichoides (Fron) als Ursache der Halmbruchkrankheit des Getreides.

Von

E. Schaffnit.

Mit 12 Textabbildungen.

Geschichtliches. Im Herbst 1932 wurde von mir erstmalig auf eine in den letzten Jahren in Deutschland besonders heftig auftretende Krankheit des Getreides hingewiesen, die namentlich bei Weizen im letzten Stadium zum Bruch des Halmes und dessen Lagerung führt.[1])

Das Krankheitsbild ist deutlich unterschieden vom nichtparasitären Lagern des Getreides: die Halme sind an der Basis eingeknickt und liegen meist flach und zwar regellos kreuz und quer auf dem Boden, während dazwischen häufig einzelne nicht oder wenig befallene Halme stehen bleiben. Handelt es sich um nichtparasitäres Lagern, so wird das Getreide meist in der Windrichtung umgelegt und der Halm in der Regel nicht gebrochen. Auf diese Dinge achtet aber der Landwirt wenig, und die nach dem Augenschein mögliche Verwechselung hat mich veranlaßt, jede Kombination mit dem Wort Lagern bei der Wahl einer treffenden Bezeichnung der Krankheitserscheinung zu vermeiden und sie wie oben zu benennen. Als Ursache dieser Krankheit haben wir in allen Fällen unserer sehr zahlreichen Untersuchungen den bisher in Deutschland übersehenen Pilz *Cercosporella herpotrichoides* festgestellt. Der Grund, weshalb man ihn als Erreger der Krankheit solange nicht erkannt hat, ist folgender: Wenn man kranke Halmteile in der feuchten Kammer oder auf Agarnährböden besonders im vorgeschrittenen Stadium der Krankheit auslegt, so lassen sich fast immer die als Erreger der Halmfusariose bekannten Fusariumarten, *Fusarium culmorum, Fusarium nivale* u. a. isolieren. Diese wohl von sämtlichen Forschern, die sich mit Fußkrankheiten befaßt haben, gemachte Erfahrung hat zu der Auffassung geführt, daß Fusarien[2]), die jetzt als „Halmbruchkrankheit" genauer umschriebene und aus dem Sammelbegriff

[1]) Schaffnit, E.: Zu den diesjährigen Ernteschäden durch Lagern des Weizens, Dtsch. Ldw. Presse 1932, Seite 535.

[2]) Das Befallsbild der Halmfusariose ist am Schluß kurz gekennzeichnet.

„Fußkrankheiten“ herausgenommene Krankheit hervorrufen[1]). Die mit den genannten Fusarien erzielten unbefriedigenden Infektionsergebnisse an erwachsenen Pflanzen und die Feststellung, daß auch die übrigen in der



Abb. 1.
Halmbruchkrankheit hervorgerufen durch *Cercosporella herpotrichoides* Fron, zwischen den gelagerten Halmen stehen nicht bzw. schwach infizierte Halme noch aufrecht.



Abb. 2.
Halmbruchkrankheit Aufsichtsbild.

---

[1]) Appel, O.: Untersuchungen über die Gattung Fusarium. Mitteil. der Biol. Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft **4.**, 31. 1907. — Atanasoff, D.: Fusarium blight of wheat and other cereals. (Journ. Agr. Res. **20.** 1, 1920). — Bennett, F. F.: Fusarium species on british cereals. The Gibbosum-group. 1. Fusarium Scirpi Lamb. et Fautr. The

Literatur als Erreger von Fußkrankheiten (mit Ausnahme der Schwarzbeinigkeit) genannten Pilze in den uns in großer Zahl vorliegenden Fällen ursächlich nicht in Betracht kommen konnten, gaben Veranlassung, unsere Aufmerksamkeit einem Pilz zuzuwenden, den G. Fron[1]) schon im Jahre 1914 an fußkranken Pflanzen gefunden und *Cercosporella herpotrichoides* genannt hat. Dieser Pilz wurde damals auch schon von Foex[2]) in den Kreis seiner umfassenden Studien über Fußkrankheiten gezogen, aber offenbar zunächst nicht weiter beachtet. Erst Ende der 20er Jahre wurde der Pilz in dem Versailler Institut erneut von fußkranken Pflanzen isoliert, aber vorsichtigerweise in Ermangelung von Fruchtformen als Champignon X bezeichnet[3]).

Im August 1932 gingen mir dann durch die Güte von Professor Foex Veröffentlichungen[4]) zu, in denen unter anderem mitgeteilt wird, daß es Sprague in U. S. A. und bald darauf auch im Laboratorium in Versailles gelungen sei, von dem Pilz in der Reinkultur Sporen zu gewinnen und seine Identität mit *Cercosporella herpotrichoides* nachzuweisen.

Kultur des Pilzes. Die Isolierung eines nach der Beschreibung mit diesem Champignon X völlig übereinstimmenden Pilzes gelang uns erstmalig von Wintergerste im Frühjahr 1932, also zu einer Zeit, zu der die Pflanze noch in voller Lebenstätigkeit steht. Anfänglich traf unsere Kulturversuche das gleiche Schicksal wie jenes der beiden französischen Autoren. Nach Anwendung der verschiedensten Kulturverfahren und Nähr-

---

annals of applied biology, **19,** 21, 1932. — Bennett, F. F.: On two species of Fusarium, Fus. culm. Sacc. and Fus. avenaceum (Fries) Sacc. as parasites of cereals. (Ann. appl. biology, 15, 213, 1928. — Dickson, J. G.: Second progress report on Fusarium blight (scab) of wheat. (Phytopathology, **11,** 50, 1921). — Foex, E.: Note sur une maladie de l'orge et de l'avoine. (Bull. de la Soc. de Pathologie Végétale. Tome 6, 1. 1919). — Krampe, O.: Fusarium als Erreger von Fußkrankheiten am Getreide. (Angew. Botanik. **8.** 217, 1926). — Rathschlag, H.: Vorkommen und Verbreitung der Fußkrankheitserreger in der Börde im Jahre 1930/31. (Angew. Botanik **4.** 28, 1932). — Russel, T. A.: Observations on foot-rot diseases of cereals. (Brit. Myc. Soc. Transactions, **16.** 252, 1931). — Schaffnit, E.: Der Schneeschimmel und die übrigen durch Fusarium nivale Ces. hervorgerufenen Krankheitserscheinungen des Getreides. (Landwirtsch. Jahrbücher, **43.** 521, 1912). — Schmidt, E. W. und Feistritzer, W.: Beiträge zur Fußkrankheit des Getreides und ihrer Bekämpfung. (Arch. f. Pflanzenbau, **8.** 405, 1932). — Simmonds, P. M.: Seedling blight and foot-rots of oats caused by Fusarium culmorum (W. G. Sm.) Sacc. (Studies in cereal diseases III.) (Dom. of Canada, Dep. of Agric., Div. of Botany, Dom. Exp. Farms Bull. 105, N. S. 1928).

1) Zitiert nach Foex u Rosella, s. Fußnote 3.

2) Nach Foex u. Rosella, s. Fußnote 3.

3) Foex, Et. et Rosella, Et.: Recherches sur le piétin. (Ann. des Epiph. **16.** 51, 1930). — Sur les diverses formes du piétin. (Rev. de Pathol. végét. und d'Entom. Agric. **17.** 41, 1930).

4) Foex, Et. et Rosella, Et.: Quelques observations sur le piétin du blé. (Rev. de Pathol. végét. et d'Entomol Agric., XVIII, 3, 1931). — Au sujet du problème du piétin du blé (ohne Angabe des Ortes der Veröffentl.).

böden gelang es im Juli 1932 den Pilz zur Fruktifikation zu bringen. Der Vergleich [1]) der Entwicklungsformen unseres Pilzes mit den Angaben von Foex und Rosella [2]), die den Pilz in morphologischer Hinsicht sehr gut und genau beschrieben haben, führte zu dem Ergebnis, daß es sich um den gleichen Parasiten handelte.

Zur Festlegung des Ganges, der zu unserem Befund führte und zu dessen Nachweis seien folgende Einzelheiten mitgeteilt: Mit der Isolation der *Cercosporella herpotrichoides* aus kranken Halmen beginnt man am

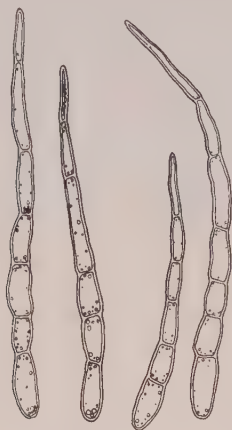


Abb. 3.
Conidien von *Cercosporella herpotrichoides*, etwas gequollen. Vergr. 780 fach.



Abb. 4.
Conidie von *Cercosporella herpotrichoides* mit Sporidienbildung.

zweckmäßigsten dann, wenn sich die ersten Anzeichen einer Infektion durch die Bildung von Nekrosen (vergl. S. 497) an dem Halm kenntlich machen (Abb. 6). Man wäscht den Halm zuerst mit Sublimatlösung (1 : 1000), dann mit Wasser ab, läßt in der feuchten Kammer Luftmyzel zur Entwicklung kommen und überträgt dann auf Agar. In späteren Stadien, namentlich wenn bereits Bruch des Getreides erfolgt ist, ist eine derartige Isolationsmethode weniger sicher. Man erhält aber auch dann Reinkulturen, wenn man den Halm mit einer sterilen Nadel aufbricht, aus dem Innern des Halmes das typische graue Luftmyzel entnimmt und dieses auf Agar überträgt. Die namentlich nach der Lagerung häufig konstatierbare Vergesellschaftung von Fusarien und *Cercosporella* ist wohl einer der Haupt-

[1]) Von der Beschaffung von Vergleichskulturen (Moritz, D. L. G. Stück 52, 1932) wurde bis jetzt, d. h. solange keine eigenen Kulturen mit Fruktifikation vorhanden waren, Abstand genommen, weil solche vorzeitig eingenommenen Hilfsstellungen leicht mißdeutet werden könnten. Aus dem gleichen Grunde wurde s. Zt. der in Deutschland von uns zuerst isolierte und als Erreger der Schwarzbeinigkeit nachgewiesene Ophiobolus graminis unabhängig von anderen Autoren in Reinkultur gezogen und auf Wunsch der Zweigstelle der B. R. A. in Kiel zur Verfügung gestellt.

[2]) Siehe die oben zitierte Literatur.

gründe, daß *Cercosporella* als Urheber des Halmbruches lange verkannt wurde und daß Fusarien für diese Krankheitserscheinung verantwortlich gemacht worden sind. Das Myzel von *Cercosporella herpotrichoides* bedarf nämlich nach der Übertragung erst einiger Tage bis es angewachsen ist, während die Fusarien sehr rasch weiterwachsen. Infolge deren schnelleren Wachstums wird außerdem die *Cercosporella* leicht von den Fusarien vollständig überwachsen. Auf Biomalz-Agar beträgt der Myzelzuwachs von *Cercosporella* bei 20 ° C in vier Tagen etwa 0,5—0,6 cm, während das Myzel von *Fusarium*



Abb. 5.
Künstliche Infektion (mit Sporen) an jungen Weizenpflanzen von 30 cm Höhe nach 3 (rechts) bzw. 7 (links) Wochen.

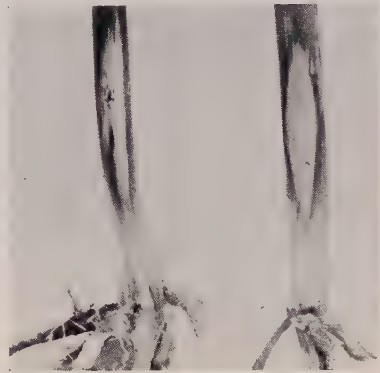


Abb. 6.
Typische Infektionsnekrosen von elliptischem Umriß, sehr schwach vergrößert.

culmorum bei der gleichen Temperatur auf demselben Nährboden in demselben Zeitraum einen Zuwachs von 3,5—4 cm aufweist.

In der Reinkultur bildet *Cercosporella* auf Biomalz-Agar zunächst nur Luftmyzel, das innerhalb 8—10 Tagen eine Kuppe aus dicht verflochtenen graubläulich bis mausgrau gefärbten Hyphen entstehen läßt. Erst nach diesem Zeitraum beginnen sich die Hyphen dem Substrat angeschmiegt fächerförmig auszubreiten und sich gleichzeitig olivbraun zu färben.

Um den Pilz zur Fruktifikation zu bringen, wurden die verschiedensten Nährbodenkombinationen hergestellt und Kulturverfahren in großer Zahl angewandt. Es gelang zwar vereinzelt Sporenbildung zu erzielen, reichliche Fruktifikation konnte aber erst erzwungen werden auf Wickelkulturen, die mit Kartoffelstengel-Agar [1]) hergestellt waren. Damit war die Möglichkeit zur einwandfreien Diagnostizierung des Pilzes, vor allem aber auch zur Durchführung ausgiebiger Sporeninfektionen mit dem Pilz gegeben.

Die in der Reinkultur gezogenen Konidien von *Cercosporella* sind nadelförmig, mehr oder weniger gekrümmt oder nur am oberen Ende

[1]) 500 ccm Brei von grünen, zermahlenen Kartoffelstengeln, 1 l Wasser, 20 g Agar-Agar.

stärker gebogen, an der Basis schwach verbreitert (Abb. 3). Die Länge der vielfach (bis sechs Scheidewände) septierten (40 -- 105 μ) keimfähigen Konidien schwankt sehr stark und beträgt im Mittel 50—70 μ. Der Durchmesser der meisten Sporen beträgt an der Basis 2—3 μ, an der Spitze 1—1,5 μ. Die Konidien werden zu 2—4, vielleicht auch zu mehr an kurzzelligen, an der Basis wenig verbreiterten Konidienträgern gebildet. Im hängenden Tropfen beginnen die Sporen unter starker Quellung des Inhalts und Formveränderungen an beliebigen Stellen in etwa 12—14 Stunden zu keimen. Zuweilen beobachtet man Anastomosen und auch die Bildung von Sporidien (Abb. 4). Eine Auskeimung der Sporidien konnte nicht beobachtet werden.



Abb. 7.
Nekrosen in verschiedener Höhe am Halm, bei × Sklerotien.

Zur Prüfung der Pathogenität unserer Reinkulturen wurde Weizen (Heines Kolben) in mit Nährlösung versetztem Sandtorfgemisch ausgesät. Als die Pflanzen eine Höhe von 30 bis 40 cm erreicht hatten, wurde eine erste Beimpfung vorgenommen, und zwar wurden die Pflanzen in einer Versuchsreihe mit einer Sporenaufschwemmung, in einer zweiten mit Myzel infiziert. Das Impfmaterial wurde dicht unter dem Boden an die Blattscheide gebracht. Drei Wochen nach der Beimpfung konnte gelungene und nach sieben Wochen starke Infektion festgestellt werden (Abb. 5). Unterschiede in der Wirkung zwischen der Beimpfung mit Myzel und mit Sporen waren nicht festzustellen. In gleichzeitig angelegten Versuchsreihen mit Wintergerste, in denen vom Pilz durchwachsenes Stroh als Infektionsmaterial in den Boden gebracht war, zeigten die jungen Pflänzchen bereits 2—3 Wochen nach dem Auflauf Befallsstellen.

Der Infektions- und Krankheitsverlauf gestaltet sich etwa

folgendermaßen: Das Myzel dringt zuerst in die Blattscheide ein, wächst stärker in der Längsrichtung als in die Breite und führt unter Ausbleichen des durchwachsenen Gewebes zur Bildung nekrotischer, braun umrandeter (Hemmungszone?) Flecken von elliptischem Umriß (Längsdurchmesser 1—2,5 cm, Breitendurchmesser $^{1}/_{4}$—$^{1}/_{2}$ cm) (Abb. 6).

Sehr bald findet man auch die ersten Anzeichen der Infektion auf dem Halm, auf dem innerhalb 8—10 Tagen ein gleicher Fleck, wie er für die Blattscheide beschrieben ist, zur Ausbildung gelangt. Später gebildete Adventivsprosse werden häufig durch den Pilz völlig zerstört. Die Flecken können dicht über dem Boden oder auch bis zu einer Höhe von etwa 20 cm am Halm auftreten (Abb. 7). Auf dem nekrotischen Gewebe des Halms beobachtet man schon sehr bald kleine schwarze Punkte, die sich wenig vergrößern, aber an Zahl zunehmen und zum Teil zusammenfließen können (Abb. 7). Die mikroskopische Untersuchung ergibt, daß diese aus Myzelverdichtungen bestehen, und von stark verdickten, mehr oder weniger abgerundeten Zellen gebildet werden. Sie tragen offensichtlich den Charakter von Sklerotien. Der Nachweis, daß sie in den Entwicklungsgang des Pilzes gehören, läßt sich nicht nur durch den Infektionsversuch führen, sondern auch durch ihre Erzeugung unter Anwendung bestimmter Kulturmethoden. Abb. 8 zeigt ihre Entwicklung in der künstlichen Kultur im hängenden Tropfen. Zuerst entstehen im Myzel zerstreut einzelne Zellen mit verdickten Wänden, diese runden sich ab, werden immer zahlreicher und verdichten sich zu kompakten Knötchen von pseudoparenchymatischer Struktur.

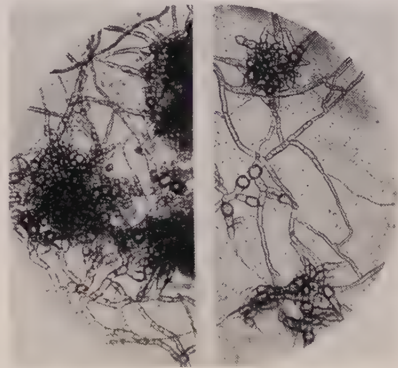


Abb. 8.
Beginnende Sklerotienbildung im hängenden Tropfen. 250 f. Vergr.

Abb. 9 gibt einen durch eine junge Infektionsstelle am Halm geführten Querschnitt wieder, der weiterhin zeigt, daß die Pilzhyphen scheinbar ohne Hemmung den Sklerenchymring durchwachsen und in das Innere des Halmes vordringen. Wie aus dem Querschnittsbild (Abb. 10) eines von dem Pilz infizierten Gefäßbündels hervorgeht, wird hier zunächst das Phloem zerstört und im vorgeschrittenen Stadium sind auch die Gefäße durchwachsen. Häufig sind die Hyphen so zahlreich, daß sie das Lumen völlig ausfüllen. Obwohl das mechanische Gewebe dem Pilz offensichtlich nur geringen Widerstand entgegensetzt, so lassen doch Sortenbeobachtungen vermuten, daß gewisse Beziehungen zwischen Schnelligkeit und Häufigkeit des Lagerns und Ausbildung des mechanischen Gerüstes bei einem Befall durch Cercosporella bestehen. So stellten wir zuerst nicht unerhebliche

Unterschiede in der Ausbildung des Sklerenchymrings zwischen 2 Sorten, die zuerst und stark lagerten und einer als besonders standfest bezeichneten Sorte fest. Im ersten Fall betrug die Breite des Sklerenchymringes 55 bzw. 61 μ bei einer Zellwandstärke von 3,15 bzw. 3,25 μ, während für den sehr standfesten Maurener Dickkopf eine Breite des Sklerenchyms von 71 μ bei einer Zellwanddicke von 4,2 μ festgestellt wurde. Es muß aber betont werden, daß es sich hierbei nicht um die Betrachtung der Frage als Resistenzproblem der Sorten, sondern lediglich in Rücksicht auf unterschiedliche Standfestigkeit handeln kann.

Der Versuch durch die chemische Analyse weitere Anhaltspunkte zu gewinnen, führte zu folgenden Ergebnissen:

Sorte	Gehalt der Trockensubstanz an			
	Rohfaser %	Pentosan %	Xylan %	Kieselsäure %
a) Italienischer Weizen von sehr geringer Standfestigkeit . . .	47,42	23,23	21,06	1,38
b) Maurener Dickkopf, sehr standfest	50,04	26,74	24.26	1,52

Die analytischen Belege lassen ohne weiteres die Beziehungen zu der Gesamtbreite des Sklerenchymrings erkennen und geben Fingerzeige dafür, daß die Zusammenhänge zwischen Cercosporella-Befall und Standfestigkeit Beachtung erheischen.

Da in der deutschen Literatur bis jetzt noch keine Diagnose für den Pilz vorliegt, sei sie hier, wie folgt, gegeben:

Cercosporella herpotrichoides (Fron).

Conidien hyalin, nadelförmig, meist mehr oder weniger gekrümmt oder nur an der Spitze stärker gebogen, vielfach septiert (im Reifezustand bis 6 Scheidewände); im Durchschnitt 50—70 μ lang; (Grenzlängen keimfähiger Sporen 10—105 μ) Breite an der Basis im Durchschnitt 2—3 μ, an der Spitze 1,0—1,5 μ. Sporidienbildung häufig, Sporidien in der Form wie die Conidien oder zylindrisch. Sporen an den Conidienträgern zu zwei bis vier vereinigt. Conidienträger undeutlich oder deutlich zylindrisch, an der Basis verbreitert.

Myzelformen: endophytisches Myzel anfangs hyalin, später gebräunt, intra- oder interzellular, Hyphen weit septiert, im Durchschnitt 2 μ breit; epiphytisches Myzel vorwiegend aus starkwandigen, mehr oder weniger abgerundeten, braunschwarzen Zellen bestehend und stecknadelkopfgroße, vielfach zusammenfließende krustige Sklerotien bildend:

[1]) Die als Xylan berechneten Werte dürften der Wirklichkeit näher kommen als die Pentosanwerte, da in reifen Halmen die furfurolgebende Substanz in erster Linie Xylan ist.

graues Luftmyzel im Hohlraum des Halmes; auf künstlichen Nährböden zunächst Bildung von Kuppen, aus dicht verflochtenen, bläulich-mausgrauen Hyphen bestehend, danach fächerförmige Ausbreitung von dem Substrat dicht anliegenden, langfädig wachsenden, sich später tief olivbraun färbenden Hyphen.

Mitunter schon im Herbst, vorwiegend im späten Frühjahr an Getreide (Weizen, Roggen, Gerste)[1]) ausgebleichte, braun umrahmte Flecken von ellip-

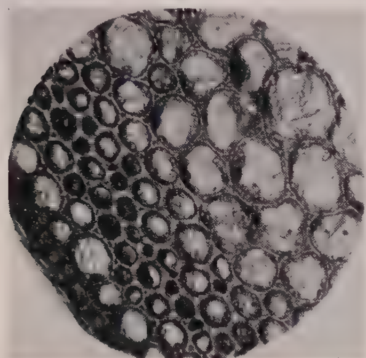


Abb. 9.

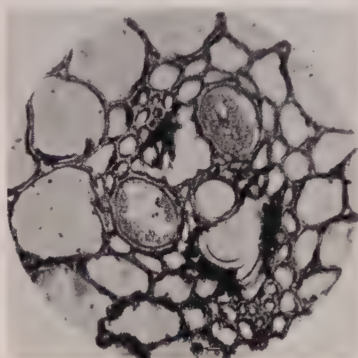


Abb. 10.

Vergrößerung 250 fach.

tischem Umriß auf den unteren Blattscheiden und Halminternodien erzeugend, im Sommer durch Zerstörung der mechanischen Elemente Halmbruch hervorrufend.

Unterscheidung von Ophiobolus- und Cercosporella-Befall. *Ophiobolus graminis* ist ein ausgesprochener Wurzelparasit: er zerstört das Wurzelwerk; die kranke Pflanze läßt sich infolgedessen leicht aus dem Boden ziehen. Von der Wurzel greift der Pilz auf die Halmbasis über und überzieht die untere Blattscheide und den Halm mit einem sofort tiefschwarz gefärbten Belag. An der Innenseite der untersten Blattscheide findet man ziemlich regelmäßig die höhere Fruchtform, die in das Gewebe eingesenkten Perithezien. Sind solche nicht vorhanden, so lassen sie sich durch Lagerung der untersten Halmteile in feuchter Luft leicht hervorrufen.

Die notreife, aufrechtstehende Ähre ist in der Regel mit dem Pilz *Cladosporium herbarum* bedeckt, schwarzfleckig und enthält Schmachtkorn oder sie ist taub. Halm und Ähre der mangelhaft bestockten kranken Pflanze sind etwa um $^1/_3$ bis $^1/_4$ kürzer als die gesunder Pflanzen. Der Pilz bildet auf eiweißhaltigen Nährböden ein Toxin (Amin), seine Gegenwart führt im Gewebe der Wirtspflanze zur Ausbildung von Protuberanzen.

---

[1]) Wie weit an anderen Pflanzen vorkommend, noch unsicher.

Das Vorkommen des Pilzes erstreckt sich hauptsächlich auf leichtere Böden, humose Böden von hohem Wassergehalt (Luftmangel), und auf fein disperse Lehm- und Lößlehmböden, wo Verkrustung statthat. *Cercosporella herpotrichoides* ist der ausgesprochene Zerstörer der Halmbasis. Die Wurzel wird nicht angegriffen, infolgedessen bricht der Halm bei dem Versuch, die Pflanze aus dem Boden zu ziehen, leicht ab. Typisch für die Krankheit sind im ersten Befallsstadium die elliptischen Flecke an der Blattscheide und am Halm. Im vorgeschrittenen Stadium knickt der Halm kurz über dem Boden meist unter leichter Drehung ein (Abb. 11), und zwar legen sich die Halme nicht, wie bei nichtparasitärem Lagern, vorwiegend in der Windrichtung um, sondern sie liegen meist kreuz und quer durcheinander. Cladosporiumbefall notreifer und lagernder Ähren kommt auch hier vor. Die Weiterverbreitung des Pilzes von Pflanze zu Pflanze erfolgt, abgesehen von Bodeninfektion, durch Sporen. Die befallenen Halme sind kaum verkürzt. Der Schaden besteht in Ertragsminderung (Schmachtkorn) und bei Umbruch des Halmes in der Erschwerung der Ernte. Der Pilz ist vorwiegend weit verbreitet auf allen typischen Weizenböden; er kommt jedoch auch auf leichteren Böden vor, doch entsteht hier seltener Halmbruch und Lager. Als einzige Fruchtform sind bis jetzt Konidien nachgewiesen.



Abb. 11.
Halmbruchkrankheit, letztes Stadium: Einknicken, Bruch und Lagern des Halmes dicht über dem Boden.

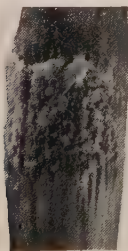


Abb. 12.
Sporodochien v. *Fusarium culmorum* auf einem der unteren Halmknoten. Vergrößert.

F u s a r i u m b e f a l l. Die wichtigsten der durch *Fusarium nivale* und *Fusarium culmorum* hervorgerufenen Krankheitsformen sind zweifellos Beschädigungen der Keimpflanzen. Für die Besiedlung des Halmes erwachsener Pflanzen durch Fusarien ist wahrscheinlich das Vorhandensein von Nekrosen oder eine Verletzung der Halmbasis erforderlich. Durch Knicken von Halmen und künstlich erzeugtes Lagern läßt sich innerhalb von 14 Tagen eine starke Besiedelung der Halme durch *Fusarium culmorum* erreichen. Wahrscheinlich bilden unter anderem die durch Cercosporella-Befall verursachten Nekrosen und Verwundungen die

Vorbedingung für diese sich hier sekundär ansiedelnden Pilze. Bei vorliegender Halmfusariose wird das Halmgewebe durch die dieses in der Richtung gegen die Spitze durchwachsenden Fusarien bis etwa zum dritten Knoten gleichmäßig braun verfärbt; auf dem Halm, insbesondere an den Knoten, erscheinen häufig lachsrot gefärbte Sporodochien (Abb. 12).

Die von uns zuerst in Deutschland gemachte Feststellung, daß nicht Fusarien die Ursache des parasitären Lagerns des Getreides sind, sondern *Cercosporella herpotrichoides*, hat nicht nur theoretische Bedeutung, sondern durch Diagnostizierung des Erregers ist es jetzt möglich, in einwandfreien Vegetationsversuchen die Lebensbedingungen für den Schädiger zu klären. Durch die Möglichkeit zur Gewinnung reichlichen Sporenmaterials vermögen wir auch eine Infektionsmethodik zu wählen, die wahrscheinlich der unter natürlichen Verhältnissen erfolgenden Infektion auf dem Felde entspricht.

Beiträge zur Kenntnis von Kältewirkungen auf die pflanzliche Zelle.
(III. Mitteilung.)

Kühlversuche mit verschieden ernährten Pflanzen und Untersuchungen über deren Stoffwechselphysiologie.

Von

E. Schaffnit und A. F. Wilhelm.

Mit 19 Textabbildungen.

Inhaltsangabe: I. Einleitung. — II. Versuche mit Kartoffeln und Tomaten; der Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung: a) auf das Verhalten dieser Pflanzen bei wenige Grade über Null gelegenen Temperaturen; b) auf die Erfriertemperatur; c) auf die beim Abhärtungsprozeß vor sich gehenden Veränderungen (Trockensubstanzgehalt des Preßsaftes — Wasserstoffionenkonzentration — Trockengewicht der ganzen Pflanze — Kohlenhydratstoffwechsel — osmotischer Wert); d) Zusammenfassung. — III. Versuche über den Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf das Verhalten von Gerste, Weizen, Roggen und Hafer bei Variierung von Zeit und Temperatur und zwar: a) bei 24stündiger Kühldauer und tiefen Temperaturen; b) bei längerer Dauer des Kältebades und weniger tiefer Temperatur; c) Zusammenfassung der Ergebnisse der Kühlversuche; d) die beim Abhärtungsprozeß vor sich gehenden Veränderungen (Trockensubstanzgehalt der ganzen Pflanze — Refraktometerwert — Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes — Kohlenhydratstoffwechsel — osmotischer Wert bei Grenzplasmolyse — Wasserstoffionenkonzentration des Preßsaftes. — IV. Besprechung der Ergebnisse. — V. Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

I. Einleitung.

In unserem letzten Beitrag über Kältewirkungen auf die pflanzliche Zelle[1]) wurden die bei Temperatursenkung erfolgenden Wandlungen der Stickstoffverbindungen genauer untersucht und die gesamten, in der Zelle vor sich gehenden Stoffwechseländerungen, soweit sie mit dem Kälteproblem in Zusammenhang gebracht worden sind, kritisch diskutiert; es wurde ferner dargelegt, daß es einseitig wäre, den Einfluß tiefer Temperaturen auf die Zelle lediglich von physikalisch-kolloidchemischen Gesichtspunkten aus zu betrachten, daß es vielmehr notwendig ist, die mit dem Absinken der Temperatur in der Zelle erfolgenden physiologisch-chemischen Umsetzungen und deren Folgeerscheinungen in den Vordergrund zu stellen. Daraus ergibt sich auch, daß es entsprechend der Vielheit der Stoffwechselvorgänge zur Feststellung der Kälteresistenz der

[1]) Schaffnit u. Lüdtke: Beiträge zur Kenntnis von Kältewirkungen auf die pflanzliche Zelle, II. Phytopathologische Zeitschr., Bd. IV, Heft 4.

Pflanzen viele Kriterien geben muß, daß es also nicht richtig sein kann, wie geschehen, die Frosthärte einseitig nur mit dem Zucker- oder Trockensubstanzgehalt oder nur mit der Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes oder der wasserbindenden Kraft der hydrophilen Zellkolloide usw. und ausschließlich mit der durch Vermehrung osmotisch-wirksamer Stoffe erfolgenden Depression des Gefrierpunktes in Verbindung zu bringen. Ergibt aber die vergleichende Untersuchung von unter sich in bezug auf Erbmasse nahestehenden Pflanzen (z. B. Sorten von Weizen einer Art) wirklich einwandfrei nachweisbare Beziehungen zwischen der Menge osmotisch wirksamer Stoffwechselprodukte und der Kälteresistenz so sind diese auch dann nicht in der Erniedrigung des Gefrierpunktes an sich, sondern in der Reaktionsweise des Protoplasmas zu suchen, wenngleich zwischen diesen durch jene Stoffe zweifellos Korrelationen bestehen. Solange allerdings unsere Kenntnis von der Zusammensetzung des Protoplasmas noch so mangelhaft ist wie heute, kann kein tieferer Einblick in die hier unter dem Einfluß äußerer Bedingungen erfolgenden Vorgänge gewonnen werden. Einen solchen werden erst eingehende chemische Untersuchungen des Protoplasmas der wachsenden Pflanze ermöglichen, wie sie von uns begonnen worden sind. Die ersten Ergebnisse sind in der oben genannten Arbeit bereits niedergelegt.

Wie unsere langjährigen Untersuchungen über die Wechselbeziehungen zwischen Wirtspflanze und Parasit gezeigt haben, wird die Reaktionsweise und Produktionsrichtung des Protoplasmas unter dem Einfluß der Ernährung weitgehend geändert. So konnte von Untersuchungen mit verschieden ernährten Pflanzen auch weitere Klärung der Zusammenhänge zwischen dem Stoffwechsel und dem Kälteproblem erwartet werden.

Jn den mit solchen Pflanzen angestellten Untersuchungen wurden die hauptsächlichsten der bisher in der Literatur mit der Kälteresistenz in Zusammenhang gebrachten Kriterien physiologischer und physikalisch-chemischer Natur (Kohlenhydratstoffwechsel, Trockensubstanz- und Wassergehalt, Trockensubstanzgehalt des Zellsaftes, Wasserstoffionenkonzentration, osmotischer Wert) berücksichtigt und stets gleichzeitig vergleichende experimentelle Kühlversuche mit dem lebenden Objekt ausgeführt.

Entsprechend der wirtschaftlichen Wichtigkeit wurden für die Untersuchungen einmal wiederum unsere Hauptgetreidearten gewählt, dann aber auch Kartoffel und Tomate, weil diese beiden Kulturpflanzen häufig unter Frösten und Kaltlufteinbrüchen im Früh- und Spätjahr zu leiden haben. Es erschien zweckmäßig, die Versuche mit Getreide und die Versuche mit Kartoffeln und Tomaten für sich zu behandeln und zum Schluß die Gesamtergebnisse einer eingehenden Besprechung zu unterziehen. Über die Methodik der Versuchsanstellung wird immer an den einschlägigen Stellen das Nötige vorausgeschickt.

II. Versuche mit Kartoffeln und Tomaten.

Versuchsmethodik.

Die Anzucht des Versuchsmaterials erfolgte in Vegetationsgefäßen nach der in früheren Arbeiten[1]) geschilderten Methode in Sand-Torfgemisch bei 60% der vollen Wasserkapazität. Die Kartoffeln wurden aus etwa 10 cm langen, gut bewurzelten Keimlingen der Sorte „Görsdorfer Kaiserkrone" und die Tomaten aus Sämlingen der Sorte „Lukullus" herangezogen.

Die Düngung war für die Reihen mit Normalernährung[2]) je Vegetationsgefäß mit 9 kg Sandtorfgemisch: Kaliumchlorid 20 cm³ (159 g auf 1 Liter Wasser), Ammonnitrat 20 cm³ (287 g auf 1 Liter Wasser) und sekundäres Kalziumphosphat 12,3 cm³ (164 g auf 1 Liter Wasser). Die Überschußpflanzen erhielten die doppelte bis dreifache Menge des betr. Nährstoffes in 3 Gaben. Die N- und P-Mangelpflanzen erhielten gewöhnlich 1 cm³ N bzw. 0,5 cm³ P, während für Kalimangelpflanzen eine Zugabe dieses Nährstoffes nicht notwendig war, da der verwendete Sand nicht ganz frei von löslichem Kali war, aber doch nur so wenig aufnehmbares Kali enthielt, daß typische Mangelerscheinungen hervorgerufen wurden.

Die Kälteanlage des Instituts.

Über die im Institut vorhandene Kälteanlage soll hier nur das zum Verständnis der Kühlversuche Notwendige kurz mitgeteilt werden.

Ein Rot-Silber-Kühlautomat Größe VI der Firma Brown, Boveri & Co gestattet eine geeignete Salzlösung (Sole) bis auf —30° abzukühlen. Die Sole dient als Kältereservoir für die Versuchsräume. An Versuchsräumen stehen zur Verfügung: drei Glashauszellen und ein ebenfalls kühlbarer, künstlich belichteter größerer Raum, in dem ein kleiner Tiefkühlschrank eingebaut ist.

Die Glashauszellen stehen auf der Schattenseite des Institutsgebäudes, so daß sie direkter Besonnung nur wenige Stunden des Tages ausgesetzt sind. In den einzelnen Zellen kann eine beliebig zwischen Null und höher liegenden Graden konstante Temperatur erreicht werden. Im Winter können auch Temperaturen unter 0° konstant gehalten werden. Die Kühlung der Zellen erfolgt durch Luft, die in einer Luftkühlkammer an ein Rippenrohrsystem, in dem die kalte Sole zirkuliert, ihre Wärme abgibt und mittels Ventilatoren durch je einen Kanal in die Zellen geworfen wird. Ventilatoren und eine zusätzliche, in kalten Wintern oft gebrauchte elektrische Heizung in den Zellen arbeiten automatisch und werden durch je einen Thermoregulator aus- und eingeschaltet. Um die aus dem Luftschacht austretende kalte Luft nicht unmittelbar zu den Versuchspflanzen gelangen zu lassen, ist in den Zellen eine Zwischendecke aus dünnem Zellophan eingelegt, das in regelmäßigen Abständen durchlöchert ist. Die kalte Luft wird dadurch zwischen Dach und Zwischendecke gespeichert und über die ganze Zelle gleichmäßig verteilt. In Pflanzenhöhe ist dann die Durchmischung der Luft soweit erfolgt, daß sich keine nennenswerten Temperaturdifferenzen ergeben können.

Die Anlage der Gewächshauszellen mit Thermoregulatoren, Luftschacht und Zwischendecke ist aus der beigegebenen Abb. 1 ersichtlich. Die Größenverhältnisse sind in Breite und Tiefe aus dem Grundriß (Abb. 2) zu ersehen. Die Höhe der vorderen Glaswand beträgt 0,90 m, die größte Höhe der Seitenwand 1,50 m. Wie aus Abb. 2 hervorgeht, sind

[1]) Schaffnit u. Volk: Über den Einfluß der Ernährung a. d. Empfänglichkeit d. Pflanzen f. Parasiten. Forschgn. auf d. Geb. d. Pflkr. u. Immunität im Pflanzenreich. Heft 3, 1927, S. 3.

[2]) In der Folge sind in dieser Arbeit folgende Abkürzungen f. d. verschieden ernährten Pflanzen gesetzt: n = normale Düngung, K +, N +, P + = K-, N-, P-Überschußdüngung, K —, N —, P — = geringe (nicht fehlende) K-, N- u. P-Gaben.

in den Zellen U-förmig Betonbehälter aufgeführt, die mit Erde angefüllt sind und bepflanzt werden können. Gleichzeitig dient der Mauerrand des Behälters als Unterlage für Bretter, auf die, wie in Abb. 1 zu ersehen ist, Topfpflanzen gestellt werden können. Die größte Höhe einer Zelle beträgt 2,80 m.

Bei höheren Außentemperaturen kann das ganze Gewächshaus mit Leitungswasser berieselt werden, indes wird es aus Gründen der Wirtschaftlichkeit nur in der kalten Jahreszeit und in den Übergangsmonaten benutzt.



Abb. 1.
Die Gewächshauszellen der Kälteanlage.

Ebenso wie die Glashauszellen wird der größere Kälteraum mittels Luft gekühlt. Dank guter Isolierung können in diesem Raum bei nicht zu hoher Erwärmung der Außenluft Temperaturen bis -10^0 längere Zeit konstant gehalten werden.

Der Tiefkühlschrank wird unmittelbar durch die ihn allseitig umspülende Sole gekühlt. Im Tiefkühlschrank sind Temperaturen bis -28^0 erreichbar. Der Temperaturausgleich innerhalb des Schrankes wird durch einen Ventilator hergestellt. Die Konstanthaltung tiefer Temperaturen erfolgt einerseits durch automatische Zufuhr kalter Sole, andererseits durch eine die Temperatur nach Bedarf erhöhende elektrische Heizung.

a) Das Verhalten verschieden ernährter Kartoffeln und Tomaten bei wenige Grade über Null gelegenen Temperaturen.

aa) Kartoffeln.

Die im Gewächshaus vorgezogenen Versuchspflanzen wurden als Keimlinge am 7. 7. in Vegetationsgefäße eingepflanzt und waren zu Beginn der Versuche je nach Ernährungsform 20—35 cm hoch. Am 8. 8. vormittags kamen je Ernährungsreihe 4—5 Pflanzen in die oben beschriebenen Glashauszellen. Die Temperatur schwankte in Zelle 1 zwischen 0^0 und $+1^0$ C, in Zelle 2 zwischen $+1$ und $+2^0$. Die Zelle 3 blieb ungekühlt. Hier herrschte ungefähr die Temperatur der Außenluft; sie betrug während der Versuchszeit, die viel Regen und wenig Sonnenschein brachte, $+12$ bis $+16^0$ und erreichte nur selten 20^0 C. Die Ergänzung des verbrauchten Wassers erfolgte regelmäßig.

Versuchsergebnis:

Am 12. August, d. i. nach 4 Tagen

Zelle 1: Von den vier K—Pflanzen eine völlig gewelkt; die übrigen Pflanzen turgescent.

Zelle 2 und 3: Keine Veränderung der Versuchspflanzen.

Am 17. August, d. i. nach 9 Tagen

Zelle 1 und 2:

n-Reihe: Drei von acht Pflanzen schwach welk, die übrigen frisch.

K+Reihe: Alle Pflanzen turgescent.

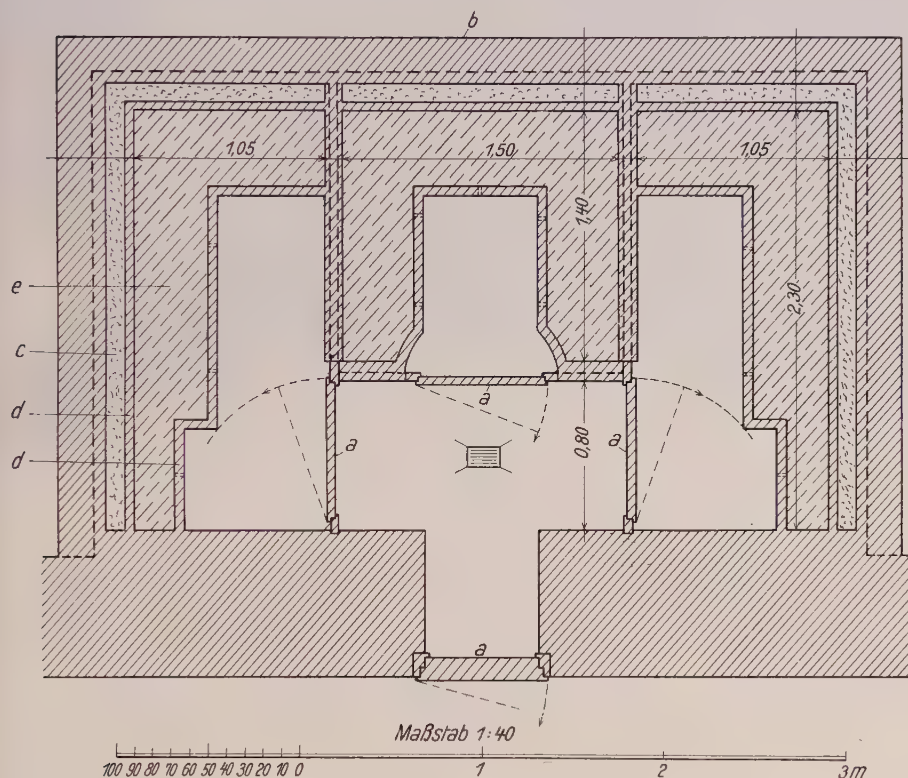


Abb. 2.
Grundriß zu den Gewächshauszellen: a) Türen, b) Grundmauern, c) Isolierschichte, d) Betonmauern, e) mit Erde gefüllter Behälter.

K—Reihe: Alle Pflanzen ± stark welk, eine Pflanze völlig abgestorben. Starke Vertrocknungserscheinungen auf den Blattspreiten. Die unteren zwei bis vier Blätter völlig vertrocknet, auf den höher inserierten, normal aussehenden Blättern Trockenflecken in den Interkostalfeldern und Vertrocknen von der Blattspitze und dem Rand her.

N+Reihe: Alle Pflanzen ± welk, eine Pflanze in Zelle 1 eingegangen. Untere ein bis zwei Blätter vertrocknet.

N—Reihe: Pflanzen ohne erkennbaren Schaden.

P+Reihe: Drei Pflanzen schwach welk.

P—Reihe: Die unteren zwei bis drei Blätter vertrocknet.

Wie zu erwarten war, blieb die in Zelle 1 und 2 gebildete Gesamtpflanzenmasse gegenüber der in Zelle 3 gebildeten deutlich zurück. Der Unterschied war von allen Reihen am größten bei K—, wo die Pflanzen kaum mehr als die Hälfte der Größe der Kontrollen erreichten, am geringsten bei K+, dann in abnehmender Reihenfolge bei P+, n und N+. Keinen deutlichen Unterschied ließen die P— und N—Pflanzen erkennen.



Abb. 3.
Links: K+Pflanze aus Zelle 1; Mitte: K—Pflanze aus Zelle 1; rechts: K—Pflanze aus Zelle 3.

Die Pflanzen in der Zelle 3 zeigten außer den bekannten, durch Ernährung bedingten Unterschieden keine Besonderheit. Zu erwähnen ist, daß die K—Pflanzen hinter den Kaliüberschuß- und normal ernährten Pflanzen im Wachstum nicht sehr viel zurückblieben. Nekrosen waren nur auf den untersten Blättern vorhanden.

Abb. 3 zeigt links eine der K+Pflanzen, die während der Kühlung in Zelle 1 völlig unbeschädigt blieben. Von den in der Mitte stehenden K—Pflanzen aus Zelle 1 ist die eine Pflanze völlig abgestorben, die andere läßt die Vertrocknungsschäden, von Blattspitze und Blattrand ausgehend, erkennen und gibt gleichzeitig ein Vergleichsbild zu dem Wachstum der rechtsstehenden K—Pflanze, die in Zelle 3 stand und auf dem untersten Blatt deutlich die Kalimangelnekrosen erkennen läßt.

bb) Tomaten.

Bekanntlich liegt für die Tomate das Wärmeminimum höher als für die Kartoffel; dementsprechend traten auch bei denselben Temperaturen eher Schädigungsmerkmale zutage. So welkten in Gartenerde gewachsene Pflanzen bei $+2^0$ bis $+3^0$ schon nach ein- bis zweimal 24 Stunden. Daß dieses Welken durch Wasserverlust infolge Transpiration und die Unfähigkeit der Wurzeln bei diesen Temperaturen genügend Wasser aufzunehmen, hervorgerufen wird, ließ sich in der Weise nachweisen, daß einmal Pflanzen unter Wasser abgeschnitten, in sehr verdünnte Knopsche Nährlösung gestellt und zusammen mit Topfpflanzen als Kontrolle einer Temperatur von $+2^0$ bis $+3^0$ ausgesetzt wurden und andererseits dadurch, daß Topf- und abgeschnittene Pflanzen bei der nämlichen Temperatur unter Glaskästen bei 100 % relativer Luftfeuchtigkeit gehalten wurden. Im ersteren Falle welkten die abgeschnittenen Pflanzen nach dreimal 24 Stunden noch nicht, während die Topfpflanzen am zweiten Tage schon beginnendes Welken zeigten und am dritten Tage völlig schlaff waren. Bei der zweiten Versuchsreihe zeigten weder Topfpflanzen noch abgeschnittene Pflanzen bis nach acht Tagen Welkeerscheinungen, während nach dieser Zeit die Topfpflanzen, deren Transpiration ungestört war, trotz genügender Bodenfeuchtigkeit so stark gewelkt waren, daß sie sich auch bei höherer Temperatur im feuchten Raume nicht wieder erholten; dagegen waren die abgeschnittenen frei transpirierenden Pflanzen z. T. noch turgescent, wiesen aber Vertrocknungserscheinungen an den Blattspitzen und am Blattrand, vor allem der unteren Blätter auf.

Obige Versuche sind Ende Oktober 1931 angestellt worden. Die Pflanzen waren etwa 25—35 cm hoch und dem ungeheizten Gewächshaus entnommen, wo sie bis zu einem gewissen Grade an niedere Temperaturen gewöhnt waren. Diese Tatsache ist deshalb zu erwähnen, weil bei Versuchen, die im Juni 1931 angestellt wurden und zu denen die Pflanzen aus dem warmen Gewächshaus entnommen waren, die Welke- und Vertrocknungserscheinungen schon nach kürzerer Zeit bei den nämlichen Temperaturen eintraten. Daraus kann wohl der Schluß gezogen werden, daß auch die sehr wärmebedürftige Tomate bis zu einem gewissen Grade eine Anpassungsfähigkeit an niedere Temperaturen besitzt.

Außer dem Welken waren, wie erwähnt, bei Temperaturen über 0^0 an den Tomaten Vertrocknungserscheinungen zu beobachten, und zwar auch an solchen Pflanzen, die noch turgescent erschienen. Abb. 4 zeigt solche Schäden fünf Tage nach ihrem Auftreten. Die Flecken sind zuerst durch Einfallen und Glasigwerden der Blattflächen gekennzeichnet und bleiben vorerst völlig grün; nach drei bis vier Tagen vertrocknet das abgestorbene Gewebe und bricht aus, so daß solcherart geschädigte Blätter durchlöchert erscheinen. Ganz ähnliche nekrotische Erscheinungen sind oft am Blattrand zu beobachten. Bemerkenswert ist, daß auch

Topfpflanzen, die bei 100 % Feuchtigkeit gestanden hatten, und die gleich nach der Kühlung keine Schädigungsmerkmale, auch kein Welken erkennen ließen, nicht unbeschädigt geblieben sind; denn fast stets wurden bei Weiterkultur in normaler Temperatur nach sechs bis zehn Tagen die unteren Blätter gelb und starben ab, während gleichaltrige unbehandelte Pflanzen diese Erscheinung nicht zeigten.



Abb. 4.
Nekrosen auf Tomatenblättern nach längerer Einwirkung über 0° gelegener Temperaturen.

Der Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf das Verhalten von Tomaten bei +2° bis +3° geht aus folgendem Versuch hervor:

Am 24. 6., abends 6 Uhr, wurden je 4 in Vegetationsgefäßen gezogene und je nach Ernährungsform 20—35 cm hohe Pflanzen aus dem Gewächshaus in die Glashauszellen gebracht. Die Temperaturen schwankten dort zwischen +2 und +3° C. Gleichzeitig wurden abgeschnittene Pflanzen derselben Ernährungsreihen in Regenwasser unter einem Glaskasten in dieselbe Zelle gestellt.

Versuchsergebnis:

Am 25. Juni abends:

Eine K — Pflanze welk.

Am 26. Juni abends:

n-Reihe: Zwei Pflanzen schwach welk.
K + Reihe: Alle Pflanzen turgescent.
K — Reihe: Alle Pflanzen stark welk.
N + Reihe: Zwei Pflanzen stark, eine Pflanze schwach welk.
N — Reihe: Untere Blätter nach oben eingerollt.
P + Reihe: Eine Pflanze stark, eine Pflanze schwach welk.
P — Reihe: Keine Veränderung.

Die abgeschnittenen, im feuchten Raum gehaltenen Pflanzen waren nach sechs Tagen noch voll turgescent und wiesen äußerlich keine

Schadensmerkmale auf. Die in den Vegetationsgefäßen stehenden Pflanzen kamen noch am Abend des 26. Juni aus der gekühlten Zelle ins Gewächshaus. Am 27. Juni früh waren alle Pflanzen wieder turgescent, auch die am stärksten gewelkten K—Pflanzen. Das letale Wasserdefizit war somit für die ganzen Pflanzen noch nicht erreicht. Daß aber diese zweitägige Kühlung bei + 2° und + 3° nicht ohne Einfluß auf die Weiter-



Abb. 5.
K+ und K—Pflanzen nach zweitägigem Stehen bei + 2 bis + 3° C.

entwicklung der Pflanzen geblieben ist, geht aus folgenden Beobachtungen hervor: Im allgemeinen starben nach ungefähr acht Tagen die unteren ein bis zwei Blätter bei den normal ernährten und Überschußpflanzen unter Vergilben ab, wobei sehr oft zuerst ein Vertrocknen der Blattränder und Blattspitzen beobachtet wurde. Bei den K—Pflanzen starben die unteren zwei bis drei Blätter, die starke Mangelnekrosen aufwiesen, ohne vorher zu vergilben ab, die nächsten zwei bis drei Blätter zeigten interkostale Vertrocknungserscheinungen. Die N— und P—Pflanzen verloren durchschnittlich die zwei untersten Blätter.

Zu einem ähnlichen Versuch wie dem eben beschriebenen wurde die Temperatur tiefer gewählt. Sie schwankte zwischen 0° und + 1°. Die Kühlung der Zellen erfolgte allmählich, so daß die gewünschte Temperatur erst nach acht Stunden erreicht war.

Versuchsergebnis:

Nach 24 Stunden am 28. Juni: Alle unteren Blätter mit Ausnahme derer der N—Pflanzen krampfartig nach unten einwärts gekrümmt; die höher inserierten etwas schlaff.

Nach 44 Stunden am 29. Juni: Zwei K—Pflanzen stark gewelkt, die andern wie am Tage vorher.

Die Pflanzen wurden dann ins warme Gewächshaus gebracht.

Feststellung am 3. Juli:

P—Pflanzen: Allmähliches Absterben, Wipfel und jüngste Blätter zum größten Teil eingegangen, die unteren Blätter vom Rand aus vertrocknet.

K+, P+, N+ und n=Pflanzen: Die untersten zwei bis drei Blätter gelb, im Absterben begriffen, auf den nächsten drei bis fünf Blättern typische Vertrocknungsnekrosen in den Interkostalfeldern; der Wipfel ohne wahrnehmbare Schädigung. Teilweise, besonders bei den N+ und P+Pflanzen Vertrocknen der Blattspitzen und Ränder auch an Blättern mittleren Alters; K+Pflanzen an diesen Blättern ohne Schaden.

K—Pflanzen: Absterben der unteren Blätter ohne zu vergilben. An den folgenden zwei bis drei Blättern Blattränder nach unten eingerollt und bis auf kleine Partien um den Hauptnerv vertrocknet. An den zwei bis drei nächsthöheren Blättern Vertrocknen der Blattspitzen und sehr zahlreiche Nekrosen in den Interkostalfeldern. Nur die jüngsten bis höchstens 6 cm langen Blätter unbeschädigt.

N—Pflanzen: Absterben der zwei bis drei untersten Blätter.

An Kontrollpflanzen im Gewächshaus waren natürlich solche Krankheitsbilder nicht aufgetreten.

Ganz ähnliche und bei den einzelnen Ernährungsreihen in gleichem Sinne liegende Erscheinungen wurden in einem weiteren Versuche festgestellt, bei dem die Temperatur während sieben Tagen (vom 24. Juni bis 1. Juli) zwischen $+6^{0}$ und $+7^{0}$ gehalten wurde.

Im einzelnen ergab sich, nachdem die Pflanzen während fünf Tagen bei normaler Gewächshaustemperatur gestanden hatten, folgendes: Bei den n, P+ und N+Pflanzen vergilbten durchschnittlich die zwei untersten Blätter, an den nächsten zwei Blättern vertrockneten teilweise die Blattspitzen und die Blattränder, während die um den Hauptnerv gelegenen Partien zumeist turgescent blieben. Bei den K+Pflanzen war gewöhnlich nur das unterste Blatt abgestorben und in seltenen Fällen vertrocknete bei den nächsthöher inserierten Blättern die Blattspitze des Endfieders. Bei den K—Pflanzen waren die zwei untersten Blätter stets, bei einer Pflanze drei Blätter völlig abgestorben; die nächsten zwei bis drei Blätter waren an der Spitze und vom Blattrand her oft bis über die Hälfte vertrocknet. Die N— und P—Pflanzen hatten durchweg die untersten zwei bis drei Blätter verloren.

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen älterer Autoren, nach denen Pflanzen der Tropen schon bei Temperaturen oberhalb 0^{0} abstarben, geht aus unseren Versuchen hervor, daß Kartoffeln und Tomaten, wenn sie längere Zeit wenige Grade über Null liegenden Temperaturen ausgesetzt werden, durch Stoffwechselstörungen irreversible Schädigungen erleiden und schließlich völlig absterben können. Das Auftreten und die Art der durch diese Temperaturen hervorgerufenen Schäden spricht

neben anderem dafür, daß ihre Ursache letzten Endes auf Störungen der Wasserbilanz beruht. Ebenso wie es Sachs[1]) gelang, seine Versuchspflanzen, Tabak und Kürbis, die bei +3° bis +5° in feuchtem Boden gewelkt waren, durch Erwärmung des Bodens auf 12° bis 15° wieder zu befähigen, den erlittenen Wasserverlust zu ersetzen, konnten wir feststellen, daß abgeschnittene und unter Transpirationsausschluß gehaltene Pflanzen bei der gleichen Temperatur später welkten und weniger geschädigt wurden als im freien Raum transpirierende Pflanzen. Für unsere Ansicht spricht auch, daß stets die untersten Blätter, die bekanntlich in Bezug auf die Wasserversorgung gegenüber jüngeren Blättern am ungünstigsten gestellt sind, ebenso wie nach einem durch ungenügende Bodenfeuchtigkeit u. a. hervorgerufenen Welken bald abstarben und ferner die Tatsache, daß an dem einzelnen Blatt die Vertrocknungsschäden an der Spitze, dem Blattrand und den Interkostalfeldern ihren Ursprung nahmen, also durchweg an Stellen, an denen sich normalerweise ein Wasserdefizit des einzelnen Blattes zuerst bemerkbar machen muß.

Galten die oben mitgeteilten Feststellungen für Kartoffel und Tomate ganz allgemein, so kann in bezug auf den Einfluß der Ernährung gesagt werden, daß unter unseren Versuchsbedingungen die reichlich mit Kali versehenen Pflanzen stets am wenigsten geschädigt wurden: Das Welken trat bei diesen Pflanzen unter allen Reihen stets zuletzt ein, das Absterben der untersten Blätter war hier am geringsten und Vertrocknungsschäden traten am wenigsten in Erscheinung. Gegensätzlich dazu verhielten sich die Kalimangelpflanzen: sie welkten unter den Pflanzen aller Reihen stets zuerst und litten am stärksten unter Vertrocknungserscheinungen. Eine Mittelstellung nahmen die normal ernährten Pflanzen ein, während die P- und besonders die N-Überschußpflanzen zwischen die normal ernährten und die Kalimangelpflanzen einzureihen sind. Über das Verhalten der P—Pflanzen der Tomaten kann keine bestimmte Aussage gemacht werden: In einem Versuch starben die Pflanzen nachträglich völlig ab, in dem anderen wurden sie nicht mehr als die normal ernährten Pflanzen geschädigt. Dagegen haben die Versuche mit Kartoffeln gezeigt, daß die N-Mangelpflanzen ebenso wie bei der Tomate kaum oder gar nicht unter den Versuchsbedingungen litten, während die P-Mangelpflanzen ziemlich stark geschädigt wurden.

Ließen schon die Beobachtungen an normal ernährten Pflanzen die unter dem Einfluß niederer Temperatur zuerst entstehenden Schädigungen unserer Versuchspflanzen als für das Auge sichtbare Ursache Störungen der Wasserbilanz erkennen, so findet unsere Ansicht eine neue Stütze

---

[1]) Sachs, J. in J. Hofmeister: Handbuch der physiologischen Botanik; S. 55, 1865.

durch das Verhalten der Pflanzen jener Ernährungsreihen, in denen die K-Mangel- und die reichlich mit Kali versorgten Pflanzen sich offensichtlich gegensätzlich verhielten. Auf die Rolle des Kaliums im Wasserhaushalt der Pflanze hat zuerst Hansteen Cranner[1]) aufmerksam gemacht und für Weizen festgestellt, daß in kalireicher Lösung die Wasseraufnahme je Gramm Wurzelmasse erhöht und die Wasserabgabe je Einheit der transpirierenden Fläche erniedrigt ist. Mit diesen Ergebnissen im Einklang stehen die Untersuchungen von Kisser[2]), Reed[3]), Schaffnit und Lüdtke[4]), die den günstigen Einfluß des Kaliums auf die Wasserökonomie bestätigten.

Wenn aber wie die Versuche weiterhin gezeigt haben, auch solche Pflanzen, bei denen die Transpiration weitgehend herabgesetzt und kein Welken eingetreten war, nach längerer Einwirkung niederer Temperatur mehr oder weniger geschädigt wurden, müssen wir annehmen, daß in diesem Falle die unter dem Einfluß der Temperatursenkung erfolgenden Stoffwechselstörungen unmittelbar zu Schädigungen bzw. zum Absterben geführt haben. Zu dem gleichen Ergebnisse führten ja auch die bekannten Versuche Molischs[5]), in denen Episcia bicolor und andere Topfpflanzen, auch wenn sie unter Transpirationsausschluß gehalten wurden, bei niederen Temperaturen in kurzer Zeit abstarben. Wenn sich bei unseren Pflanzen die Kälteeinwirkungen dem Auge als Störungen der Wasserbilanz zu erkennen gaben, so kann das darauf zurückgeführt werden, daß die Wurzeln kälteempfindlicher als die oberirdischen Teile sind und entsprechend der im Boden normalerweise langsamer als in der Luft erfolgenden Temperatursenkung mit einem in geringerem Maße auf niedere Temperatur einregulierten Eigenstoffwechsel in das Kältebad gekommen sind. Die Wasseraufnahme aus dem Boden läßt sich bekanntlich nicht rein physikalisch erklären, sondern ist vom Vitalitätszustand des Protoplasmas abhängig. Sobald dessen Funktionen durch irgendeine Ursache gestört sind, kann Welken eintreten, auch wenn der Pflanze reichlich Wasser im Boden zur Verfügung steht. So müssen auch mit der Temperatursenkung und in Abhängigkeit von der Dauer der Kältewirkung in den Wurzelzellen erfolgende Stoffwechselstörungen eine Herabminderung der motorischen Kräfte des Protoplasmas zur Folge haben und diese,

[1]) B. Hansteen Cranner: Über das Verhalten der Kulturpflanzen zu den Bodensalzen. Jahrb. f. wiss. Bot. 47, 289, 1910.

[2]) Kisser, J.: Untersuchungen über den Einfluß der Nährsalze auf die Wasserabgabe, Wasseraufnahme usw. (Planta, **3**, 1927, 562.)

[3]) Reed, H. S.: The effect of certain chemical agents upon the transpiration and growth of wheat seedlings. Bot. Gaz. 81, 1910.

[4]) Schaffnit, E. u. Lüdtke, M., a. a. O.

[5]) Molisch, H.: Das Erfrieren von Pflanzen bei Temperaturen über dem Eispunkt. (Sitzungsbericht d. Math. Naturw. Klasse Bd. 105, Abt. I, Wien, 1896.)

d. h. die ungenügende Wasseraufnahme aus dem Boden ist es, die schließlich zu der Schädigung führt, die uns als Welkeerscheinung entgegen tritt.

Wenn Molisch ausdrücklich darauf hinweist, daß das Absterben seiner Versuchspflanzen schon nach einigen Stunden erfolgte, so handelte es sich offensichtlich um Pflanzen, die unter den von ihm gewählten Versuchsbedingungen vorher eingehen, ehe es überhaupt zu Transpirationsschäden kommt.

b) Das Verhalten verschieden ernährter Kartoffeln und Tomaten bei unter 0° C. gelegenen Temperaturen.

Während die obenbeschriebenen Versuche in erster Linie den Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung auf das Verhalten von Tomaten und Kartoffeln bei über 0° liegenden Temperaturen klären sollten, ist im folgenden zu zeigen, inwieweit die Erfriertemperatur solcher Pflanzen verschieden ist. Zur Technik der Versuchsanstellung ist kurz folgendes zu sagen:

Die Kühlversuche wurden in dem Vorraum, in dem der Tiefkühlschrank eingebaut ist, vorgenommen, und zwar wurden die Pflanzen, um die durch die einströmende kalte Luft verursachten Schwankungen auszugleichen, unter einen Glaskasten von $0{,}50 \times 0{,}60 \times 0{,}65$ cm Größe gebracht. Die Lufttemperatur wurde dadurch unter dem, außerdem noch mit einem Jutesack völlig bedeckten Kasten weitgehend konstant gehalten und mittels Fuess'schem Thermographen registriert.

Die Pflanzen wurden der Raumersparnis halber dicht über dem Erdboden abgeschnitten, in Glaszylinder mit Regenwasser gestellt und 4 Stunden bei der Temperatur der Vorbehandlung stehen gelassen.

Im allgemeinen fanden zu jedem Versuch 2 Pflanzen von jeder Reihe Verwendung, im ganzen also 14 Pflanzen, wenn nur eine Ernährungsreihe geprüft wurde, und 28, wenn abgehärtete und bei normaler Temperatur gehaltene Pflanzen miteinander verglichen wurden.

Zur Abhärtung wurden die Kartoffeln 2 Tage bei 8°, dann 6 Tage bei +4 bis +5° gehalten. Für die Tomaten wurden die entsprechenden Temperaturen höher gewählt. Sie betrugen zuerst +10°, dann +6 bis +7°. Welken war unter diesen Bedingungen noch nicht eingetreten, dagegen starben die unteren Blätter der P — Pflanzen beider Versuchsreihen im Gegensatz zu den Kontrollpflanzen bei normaler Temperatur ab. Die K — Pflanzen waren im Wachstum deutlich gehemmt und wiesen in wesentlich stärkerem Umfang und an jüngeren Blättern Nekrosen auf als die bei höherer Temperatur gehaltenen Vergleichspflanzen.

aa) Kartoffeln.

Aus Vorversuchen hat sich ergeben, daß unter unseren Versuchsbedingungen die verwendete Kartoffelsorte bei −3,5° Lufttemperatur[1])

[1]) Es sei hier bemerkt, daß in den folgenden Versuchen stets nur die Lufttemperatur gemessen wurde. Über die jeweils in den Pflanzen herrschenden Temperaturen kann natürlich nichts ausgesagt werden, was sich bei unserem Versuchsziel, ein etwa unterschiedliches Verhalten unserer Objekte unter denselben Bedingungen festzustellen, auch erübrigte.

Versuch 1.

Temperatur: — 3,1° bis — 3,2°; Kühldauer: 17. August, 15 Uhr, bis 18. August, 8 Uhr.

Ergebnis.

Er-nährung	Nicht abgehärtet	Abgehärtet
n	Der Wipfel und alle oberen Blätter abgestorben, ebenso die Stiele der unteren Blätter. Blattspreite der unteren Blätter nicht abgetötet	Pflanzen unbeschädigt
K +	Der Wipfel, ferner Blätter und Stengel bis unterhalb der Mitte abgestorben. Die unteren Blätter samt den Blattstielen unbeschädigt	„ „
K —	Beide Pflanzen unbeschädigt	„ „
N —	Beide Pflanzen ohne Schaden	„ „
N +	Stengel und obere Blätter abgetötet. Die zwei untersten Blätter mit Stielen unbeschädigt	„ „
P +	Stengel und alle oberen Blätter abgetötet, die drei untersten Blätter unbeschädigt	„ „
P —	Beide Pflanzen unbeschädigt	„ „

Versuch 2.

Temperatur: — 3,3° bis — 3,4°; Versuchsdauer: 18. August, 20 Uhr, bis 19. August, 8 Uhr.

Er-nährung	Nicht abgehärtet	Abgehärtet
n	Stengel und Blätter bis auf die zwei untersten abgestorben	Die Pflanzen sind bis auf ein Blatt unversehrt; an diesem Blatt nur die jüngsten Fieder abgetötet, das Endfieder unversehrt
K +	Pflanzen völlig abgetötet	Pflanzen unbeschädigt
K —	Pflanzen völlig abgetötet	Stengel, Blattstiele und Wipfel durchweg abgestorben; die untersten zwei Blätter unbeschädigt, die mittleren Blätter vom Blattgrund aus bis auf $^1/_3$ der Spreite abgetötet, Spitzenhälfte unversehrt
N —	Pflanzen unbeschädigt	Pflanzen unbeschädigt
N +	Pflanzen bis auf die untersten Blätter abgestorben	„ „
P +	Stengel und Wipfel mit den obersten Blättern völlig abgestorben; die zwei untersten Blätter unbeschädigt, die zwei mittleren vom Blattgrund aus bis zur Hälfte der Blattspreite abgestorben	„ „
P —	Pflanzen unbeschädigt	„ „

nach 24 Stunden völlig abgetötet war, während nach 12 Stunden bei −3° noch keine Eisbildung erfolgt war. Wir haben deshalb unsere Versuche bei Temperaturen zwischen −3° und −3,5° angestellt und auch den Zeitfaktor entsprechend variiert.

Die vorstehenden Versuche haben klar gezeigt, daß die abgehärteten Pflanzen bei tieferen Temperaturen abstarben als bei normaler Temperatur gewachsene und ferner, daß die P— und N—Pflanzen in beiden Reihen keine Schädigung erkennen ließen. Weitere Versuche sollten die Frage klären, ob Kaliüberschußpflanzen gegenüber Mangel- und normal ernährten Pflanzen im Vorteil sind.

In den zu diesem Zweck ausgeführten Versuchen, die mit nicht abgehärteten Pflanzen in mehrfacher Wiederholung angestellt wurden und in denen eine Temperatur von −3,1° bis −3,2° gewählt wurde, ergab sich, daß das individuell unterschiedliche Verhalten der einzelnen Pflanzen das durch die verschiedene Kaliernährung bedingte verdeckte; denn es kam mehrmals der Fall vor, daß von den zwei, in demselben Glaszylinder stehenden Pflanzen die eine mehr oder weniger erfror, während die andere unversehrt blieb. Bei 24 Stunden langer Kühlung bei −3,2° waren alle Pflanzen restlos abgetötet. Daraus ist zum mindesten zu folgern, daß Kalidüngung die Kälteresistenz nicht abgehärteter Pflanzen nur innerhalb enger Grenzen zu verschieben vermag. Dagegen kann aus den Versuchen, die mit abgehärteten Pflanzen ausgeführt wurden, geschlossen werden, daß die Kalimangelpflanzen eher als die normal ernährten und Kaliüberschußpflanzen erfrieren, wobei aber auch die normal ernährten Pflanzen nur selten mehr geschädigt wurden als die K+Pflanzen. Bei diesen sechs Versuchen wurde eine Temperatur um −3,3° gewählt. Da nach 24 Stunden bei −3,4° alle Pflanzen abgestorben waren, wurde bei den übrigen Versuchen die Kühldauer auf acht und zwölf Stunden beschränkt. Jede Ernährungsform war in diesen Versuchen mit zwei Pflanzen vertreten. Das Ergebnis dieser Versuche ist in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt. Der Grad der Beschädigung ist durch folgende Zeichen ausgedrückt:

0 = keine Schädigung; + bedeutet, daß nur einzelne Blätter geschädigt wurden, ++, daß gewöhnlich der Wipfel und die oberen Blätter abgetötet wurden und +++, daß die ganze Pflanze abstarb.

Die Schwankungen, wie sie aus dieser Zusammenstellung ersichtlich sind, ergaben sich in mehreren Versuchen, die mit in Gartenerde gezogenen, abgehärteten Pflanzen, die reichlich zur Verfügung standen und von denen nach dem Äußeren zu urteilen, nur gleichwertiges Material ausgesucht wurde, stets wieder.

Tabelle 1.

Einfluß verschiedener Kaligaben auf die Erfriertemperatur abgehärteter Kartoffeln.

Ernährung	Pflanze	1. Temp. — 3,3° 8 Stunden	2. Temp. — 3,3° 12 Stunden	3. Temp. — 3,3° 12 Stunden	4. Temp. — 3,4° 8 Stunden	5. Temp. — 3,4° 12 Stunden
n	a	+	+	0	+	+
	b	0	+	++	++	+++
K+	a	0	+	+	++	++
	b	0	0	+	+	+
K—	a	+	++	+	++	+++
	b	0	+	+	+	++

bb) Tomaten.

Die Temperatur, bei der die Tomate unter den gewählten Versuchsbedingungen erfror, lag im Mittel bei —2,5°, war also höher als die für die Kartoffel ermittelte. Daß auch hier individuell unterschiedliches Verhalten der Pflanzen vorkam, zeigte folgender Versuch:

Versuch 1.

25. 10. 31: Temperatur unter dem Kasten nach dem Einbringen der Pflanzen: 12 Uhr —1°; 17 Uhr —2°; 22 Uhr —2,3°; 8 Uhr —2,4°; 12 Uhr —2,4°.

Um 22 Uhr war von sechs Pflanzen eine abgetötet, bis um 13 Uhr des nächsten Tages blieb die sechste Pflanze immer noch unbeschädigt, während über Nacht auch die anderen vier Pflanzen völlig abgestorben waren. Die Pflanzen waren dem Gewächshaus entnommen, wo die Temperatur in den vorhergehenden Tagen tagsüber um 16° und nachts um 8° schwankte.

Daß es aber trotz dieser bei gleicher Vorbehandlung individuellen Verschiedenheit möglich war, den Einfluß des Abhärtens zu erkennen, zeigen folgende Versuche, bei denen absichtlich um die Versuchsdauer zu verkürzen, etwas tiefer gekühlt wurde.

Versuch 2.

Temperaturverlauf: 11 Uhr 0°; 12 Uhr —2°; 13 Uhr —3°; 14 Uhr —3°.

Versuchspflanzen: 5 abgehärtete und 5 nicht abgehärtete Topfpflanzen.

Um 14 Uhr waren abgestorben: Von den abgehärteten Pflanzen eine, von den nicht abgehärteten vier.

Versuch 3.

Temperaturverlauf: 15 Uhr —2°; 16 Uhr —3°; 17 Uhr —3,2°; 18 Uhr —3,2°; 19 Uhr —3,2°; 20 Uhr —3,2°.

Versuchspflanzen: je 4 Topfpflanzen, je 2 abgeschnittene in Leitungswasser stehende Pflanzen.

Um 20 Uhr waren abgetötet: Von den abgehärteten Pflanzen eine Topfpflanze, von den nicht abgehärteten drei Topfpflanzen und beide abgeschnittene Pflanzen. Bei einer Kühldauer von 24 Stunden waren bei —3,2° sowohl abgehärtete als auch nicht abgehärtete Pflanzen restlos abgestorben.

Der Einfluß der Ernährung auf die Erfriertemperatur der Tomaten wird am besten durch die nachfolgenden Abbildungen deutlich gemacht. Kühldauer 26. Oktober 16^{30} Uhr bis 27. Oktober 8^{30} Uhr. Temperaturverlauf: 16^{30} Uhr -1^{0}, 18 Uhr -2^{0}, 20 Uhr $-2{,}5^{0}$, 24 Uhr $-2{,}5^{0}$, 8^{30} Uhr $-2{,}5^{0}$.



Abb. 6.
Von links nach rechts: K + Pflanzen nicht abgehärtet; K + Pflanzen abgehärtet; K — Pflanzen nicht abgehärtet; K — Pflanzen abgehärtet.



Abb. 7.
Von links nach rechts: P + Pflanzen nicht abgehärtet; P + Pflanzen abgehärtet. P — Pflanzen nicht abgehärtet; P — Pflanzen abgehärtet.

Aus diesem Versuche, der mit demselben Erfolg wiederholt werden konnte, ergab sich einmal, daß die abgehärteten Pflanzen stets weniger beschädigt wurden als die nicht abgehärteten, daß die N — und P — Pflanzen sowohl abgehärtet als auch nicht abgehärtet, die geringste Schädigung aufwiesen, ferner, daß die reichlich mit Kali versorgten Pflanzen sowohl bei den abgehärteten als auch bei den nicht abgehärteten

Pflanzen gegenüber den Kalimangelpflanzen besonders, aber auch gegenüber den N + und P + Pflanzen im Vorteil waren. Die abgehärteten K + Pflanzen ließen sehr deutlich das krampfhafte Einrollen der unteren Blätter erkennen, wie es sich auch bei früheren Versuchen eingestellt hat. Eine teleologische Erklärung dieser immer wieder gemachten Beobachtungen könnte mit dem Versuch einer Transpirationseinschränkung gegeben werden.

Wie aus den aufgezeichneten Temperaturen hervorgeht, sind die durch die Ernährung bedingten Unterschiede einerseits und die unter dem Einfluß des Abhärtens entstandenen andererseits auch bei der Tomate nicht groß; denn in einem Versuch vom 31. Oktober, bei dem die Kühl-



Abb. 8.
Von links nach rechts: N + Pflanzen nicht abgehärtet; N + Pflanzen abgehärtet.
N — Pflanzen nicht abgehärtet; N — Pflanzen abgehärtet.

dauer bei einer Temperatur von $-2{,}9^0$ bis -3^0 24 Stunden betrug, waren sämtliche Pflanzen mit Ausnahme einer abgehärteten P — Pflanze abgestorben. Im ganzen konnte also die Erfriertemperatur durch Ernährung und gleichzeitige Abhärtung um rund $0{,}5^0$ gesenkt werden.

Für die Tomaten und in gleicher Weise auch für die Kartoffeln ist es jedoch nicht ausgeschlossen, daß unter anderen Bedingungen, z. B. durch Anwelken, die Erfriertemperatur noch mehr gesenkt werden kann. Daß Anwelken eine solche Wirkung hat, ist vor allem deshalb anzunehmen, weil nach unseren Beobachtungen das Absterben stets in den wasserreichsten Geweben einsetzt, also im Wipfel und in den jüngsten Blättern, während die ältesten gewöhnlich zuletzt abgetötet werden, ferner deshalb, weil an dem einzelnen Blatt der Stiel und die um den Hauptnerv gelegenen Gewebepartien zuerst, dagegen Blattrand, Interkostalfelder und Blattspitzen, die bei Temperaturen über 0^0 zuerst vertrocknen, zuletzt absterben.

Das Ergebnis der Kühlversuche mit Kartoffeln und Tomaten läßt sich kurz dahin zusammenfassen, daß verschiedene Mineralsalzernährung unter sonst gleichen Bedingungen die Temperatur, bei der die Pflanze erfriert, in bestimmter Richtung um einige Zehntel-Grade verschiebt. Sie liegt am tiefsten für die N — und P — Pflanzen, in der Mitte für die K + Pflanzen und am höchsten für die n, N + und P + Pflanzen und insbesondere für die K — Pflanzen. Außerdem hat sich gezeigt, daß auch bei Kartoffeln und Tomaten eine Abhärtung zu erreichen ist in dem Sinne, daß durch Kultur bei entsprechend niedriger Temperatur eine Erniedrigung der Erfriertemperatur eintritt. Eine Abhärtung, wie wir sie bei den Winterannuellen kennen, scheint aber bei Kartoffel und Tomate nicht möglich zu sein; denn unter den gegebenen Versuchsbedingungen waren nach kürzerer oder längerer Zeit stets auch mit dem Tode endigende Erkrankungserscheinungen aufgetreten, so daß eine nach unserer Ansicht wesentliche Bedingung für erfolgreiches Abhärten im weitesten Sinne, d. h. ohne Schädigung wirksam zu sein, nicht erfüllt war. Wir haben den Einfluß des Kaliums auf das Verhalten von Kartoffel und Tomate deshalb in den Vordergrund gestellt, weil in der Literatur zwar dem Kali eine frostschützende Wirkung zugesprochen wird, ohne daß aber bisher ausgedehnte, allen hier in Frage kommenden Gesichtspunkten Rechnung tragende Versuche vorlagen. Bolhuis[1]) glaubt auf Grund seiner Versuche die frostschützende Wirkung der Kalidüngung bewiesen zu haben, während Wartenberg[2]), der allerdings mit anderer und vielleicht unzulänglicher Methode die Resultate von Bolhuis nachgeprüft hat, zu dem Ergebnis gelangt, ,,daß die Kalidüngung die Resistenz dieser Kartoffelpflanze vermindert hat, und daß man durch Resistenzveränderung durch Kältereize ein Versuchsergebnis bekommen kann, welches die Kalidüngung als Schutz gegen den Erfriertod zu beweisen scheint“.

Nach unseren eigenen Versuchen mit nicht abgehärteten Kartoffeln — nur mit solchen haben beide Autoren gearbeitet — ließ reichliche Kalidüngung keinen Einfluß auf die Ertriertemperatur erkennen; insoweit sind also die Ergebnisse der Nachprüfung der Bolhuis'schen Versuche durch Wartenberg richtig. Für abgehärtete Kartoffelpflanzen konnte dagegen die günstige Wirkung des Kaliums wahrscheinlich gemacht und für Tomatenpflanzen mit Sicherheit festgestellt werden.

Noch deutlicher tritt der Einfluß des Kaliums und zwar jetzt für beide Versuchsobjekte zutage, wenn Temperaturen, die noch oberhalb der Erfriertemperatur der Pflanzen liegen, längere Zeit einwirken. Bei Fehlen ausreichender Kalimengen tritt unter diesen Umständen ein lang-

[1]) Bolhuis, G. G.: Kalidüngung und Nachtfrostgefahr. (Ernährung der Pflanze, Nr. 13/1928, p. 231.)

[2]) Wartenberg, H.: Über die Wirkung der Kalidüngung auf die Frostempfindlichkeit der Kartoffelpflanze. (Arb. d. B. R. A. Bd. 17, 1929, p. 377.)

sames Vertrocknen ein. Es liegt nahe, diese Wirkung der Kaliernährung dadurch zu erklären, daß Kalimangel gleichbedeutend ist mit erschwerter Aufrechterhaltung der Wasserbilanz, während die reichlich mit Kali versorgten Pflanzen erhöhte Aufnahmefähigkeit mit sparsamer Abgabe von Wasser verknüpfen.

c) Physiologisch-chemische Untersuchungen.

Diese Untersuchungen haben erhöhtes Interesse in der eingangs gekennzeichneten Richtung durch die gleichzeitig vorgenommenen Kühlversuche gewonnen. Außerdem liefern sie aber auch einen Beitrag zur Physiologie verschieden ernährter Pflanzen. Sie erstreckten sich auf die Feststellung des Trockensubstanzgehaltes der ganzen Pflanze und des Zellsaftes, des osmotischen Wertes des Preßsaftes durch Bestimmung des Gefrierpunktes bzw. der Zellen bei Grenzplasmolyse, des Kohlenhydratstoffwechsels und der Wasserstoffionenkonzentration des Preßsaftes.

Über die angewandte Versuchsmethodik.

Zur Gewinnung von Preßsaft wurden lebende Blätter mittleren Alters im Porzellanmörser möglichst rasch und fein zerrieben und in einer Handpresse bei stets gleichem Druck abgepreßt. Der stark trübe Saft wurde während genau 15 Minuten bei 3000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert und sofort verarbeitet. Ohne auf die schon reichlich vorhandene Literatur über Preßsaftgewinnung eingehen zu wollen, sei festgestellt, daß sie u. E. je nach dem Zwecke und vor allem nach dem Pflanzenmaterial verschieden ausgeführt werden muß und daß das angewandte einfache Verfahren zufriedenstellende, d. h. bei Wiederholung des Versuches übereinstimmende Werte geliefert hat. Das Wesentliche für die Gewinnung von vergleichbaren Werten ist aber immer, wie auch besonders hier betont sei, die Anzucht und Verarbeitung des Versuchsmaterials unter ganz gleichen Bedingungen.

Die Refraktometerwerte wurden mit einem Askania-Universal-Refraktometer gemessen, die Gefrierpunktserniedrigung im kleinen Beckmannschen Apparat bestimmt und die Wasserstoffionenkonzentration elektrometrisch mit der Chinhydronelektrode gemessen. Alle drei Messungen wurden in aliquoten Teilen möglichst desselben Saftes rasch hintereinander ausgeführt.

Über die zu erwartende Genauigkeit der Werte gaben besondere Versuche mit Tomaten Aufschluß. Während die Refraktometerwerte von Preßsaft aus dem Wipfel bzw. den unteren Blättern Unterschiede von durchschnittlich 0,5 Skalenteilen ergaben, wurden für 6 verschiedene Pflanzen, von denen nur mittlere Blätter zur Verarbeitung kamen, folgende Werte abgelesen: 7,2; 7,4; 7,2; 7,3; 7,2; 7,3. Die Werte für Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes wurden für 3 Pflanzen derselben Reihe mit 0,64, 0,63 und 0,64 bestimmt. Im Hinblick auf die sich ergebenden Unterschiede bei den einzelnen Versuchsreihen war die gewonnene Genauigkeit völlig befriedigend. Alles zur Verarbeitung kommende Material wurde nur vormittags längstens bis 10 Uhr entnommen, was besonders bezüglich der Trockensubstanz- und Zuckerbestimmung für notwendig erachtet wurde.

A. Der Trockensubstanzgehalt des Preßsaftes.

1. Tomate.

Die Bestimmung des Trockensubstanzgehaltes von Preßsäften mittels einer einfachen Ablesung am Refraktometer ist nicht unbedenklich; denn

der Grenzwinkel der totalen inneren Refraktion, der ja allein gemessen wird, stellt eine Molekularkonstante dar; er verändert sich also nicht allein mit der Konzentration der im Zellsaft vorkommenden Stoffe, sondern auch mit ihrer Art. Falls nur die Konzentration derselben Stoffe sich ändert, wird das Refraktometer genaue Werte liefern; die Methode muß aber versagen, wenn Moleküle anderer Art entstehen bzw. andere verschwinden. Wir dürfen jedoch annehmen, daß letzterer Fall bei derselben Pflanze seltener eintritt als z. B. bei verschiedenen Sorten.

a) Tomate.

Die Refraktometerwerte wurden in Preßsäften von Pflanzen bestimmt, die einmal bei ca. 20° gehalten und zweitens bei ca. 8° wie üblich abgehärtet waren. Die Bestimmung erfolgte am 18. und 19. Juni bzw. am 27. Oktober 1931.

Tabelle 2.
Refraktometerwerte von Tomatenpreßsaft bei 22°.

Ernährung	Pflanzen bei 20°	Pflanzen bei 8°
Bestimmung am 18. und 16. Juni.		
n	9,0	11,5
K +	9.0	11,8
K —	11,3	11,8
N +	10,5	13,1
N —	7,8	—
P +	9,4	11,7
P —	7,8	—
Bestimmung am 27. Oktober.		
N —	6,2	5,6
P —	6,5	7,5

Auffallend ist einmal der Unterschied zwischen den am 17. Juni aus dem Gewächshaus entnommenen, in Komposterde gewachsenen Pflanzen mit einem Wert von 7,3 (vgl. S. 524) und den in der Zelle bei 20° gehaltenen, normal ernährten Pflanzen, die sich im gleichen Entwicklungsstadium befanden, von 9,0. Sehen wir von dem Wert für die N—Reihe ab, dann ergibt sich eine Erhöhung der Refraktometerwerte der abgehärteten gegenüber der bei höherer Temperatur gehaltenen Pflanzen. Bemerkenswert erscheint der niedrige Wert für die P— und N—Pflanzen, die sich im Kühlversuch als am resistentesten erwiesen haben. Ergibt sich schon für die N- und P-Mangelreihen keine Beziehung zur Kälteresistenz, so kann auch innerhalb der Reihen, die dieselbe Vorbehandlung erfahren haben, kein Parallelgehen zwischen Refraktometerwert und Erfriertemperatur gefunden werden, besonders wenn wir die K— und K+Werte der nicht abgehärteten und die K+ und N+Werte der abgehärteten Pflanzen betrachten.

b) Kartoffel.

Die Kühlversuche haben bezüglich der Ernährungsreihen und nach verschiedener Vorbehandlung bei Tomaten und Kartoffeln analoge Werte ergeben. Auch die Refraktometerwerte liegen für die Kartoffel in ungefähr gleicher Richtung. Das Versuchsmaterial ist am 7. und 8. August 1931 verarbeitet worden. Die eine Reihe stand zur Abhärtung zehn Tage bei + 5° bis + 7°, die andere in der Zelle nebenan bei ca. 20° bis 25° C. Dieselbe Bestimmung nach derselben Vorbehandlung am 18. August für normal ernährte und N + Pflanzen ausgeführt, ergab nicht die gleichen, aber gleichsinnige Werte. Eine Übersicht gibt die folgende Zusammenstellung.

Tabelle 3.
Refraktometerwerte von Kartoffelpreßsaft bei 22°, am 7. und 8. August 1931.

Ernährung	Nicht abgehärtet 10 Tage bei ca. 22—25°	Abgehärtet 10 Tage bei ca. 6—7°
n	4,4	8,8
K +	4,9	9,3
K —	6,2	10,9
N +	5,3	9,3
N —	4,4	5,6
P +	4,4	8,6
P —	5,8	9,1
Am 18. August 1931.		
n	5,2	9,2
N +	6,2	9,3

Im Vergleich zur Tomate fällt einmal der niedrige Refraktometerwert sowohl der abgehärteten Pflanzen als der bei normaler Temperatur gewachsenen auf, obwohl die Kartoffel stets bei niedrigerer Temperatur abstirbt als die Tomate. Da sich auch bei der Kartoffel die N — und P Pflanzen durch die niedrigste Erfriertemperatur auszeichneten, ist der relativ niedrige Wert der N und P Pflanzen und der hohe Wert der K — Pflanzen in beiden Versuchsserien beachtenswert.

B. Die Wasserstoffionenkonzentration.

Die pH-Werte, die nur im Kartoffelpreßsaft gemessen wurden, sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Aus diesen Werten ist ersichtlich, daß unter dem Einfluß der Abhärtung die Azidität bei allen Ernährungsformen sinkt. Die N — und P — Pflanzen stellen in beiden Reihen die Extreme dar; Stickstoffmangel bedingt die höchste, Phosphormangel die niedrigste Wasserstoffionenkonzentration. Diese Werte stimmen bezüglich ihrer relativen Einord-

Tabelle 4.
pH-Werte des Kartoffelpreßsaftes.

Ernährung	Nicht abgehärtet	Abgehärtet
Am 7. und 8. August 1931.		
n	5,90	6,40
K +	5,83	6,26
K —	5,93	6,20
N +	5,83	6,44
N —	5,78	6,14
P +	5,97	6,99
P —	6,39	7,26
Am 18. August 1931.		
n	6,07	6,27
N +	6,14	6,27

nung gut mit denen überein, die seinerzeit titrimetrisch[1]) bei verschieden ernährten Tomaten gefunden wurden. An derselben Stelle ist auch auf den veränderten Farbton des Anthozyans hingewiesen. In bezug auf die unterschiedliche Kälteresistenz lassen die elektrometrisch ermittelten pH-Zahlen keine Übereinstimmung erkennen, da gerade die beiden extreme Werte ergebenden N — und P — Reihen die kälteresistentesten Pflanzen umfassen. Was die Reaktionsverschiebung des Preßsaftes unter dem Einfluß niedriger Temperatur betrifft, so sind die Ergebnisse nicht uninteressant, da sie als Bestätigung dafür dienen können, daß außer den bekannten Veränderungen im Kohlenhydratstoffwechsel auch bezüglich der Eiweißverbindungen, deren Ab- bzw. Aufbauprodukten wir die Reaktionsverschiebung in erster Linie zuschreiben müssen, Veränderungen eintreten, die schon bei anderen Pflanzen festgestellt wurden.[1])

Wenn auch aus der Reaktion des Preßsaftes nicht ohne weiteres auf die Reaktion des Zellsaftes geschlossen werden kann, so ist doch im vorliegenden Falle mit ziemlicher Sicherheit anzunehmen, daß die Wasserstoffionenkonzentration im Zellsaft der N — Pflanzen höher ist als in dem der P — Pflanzen, während sie bei den übrigen Ernährungsformen eine Mittelstellung einnimmt. Wenn aber unter diesen Umständen keine Beziehung zu den Ergebnissen der Kühlversuche besteht und die beiden resistentesten Pflanzen extreme Zellsaftreaktion zeigen, dann muß zum mindesten für die untersuchten Pflanzen gefolgert werden, daß die natürliche Reaktion des Zellsaftes ohne Bedeutung für den Erfriertod dieser Pflanzen ist. Eher wäre ein Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration dann zu erwarten, wenn — wie es bei den sogenannten eis-

[1]) E. Schaffnit u. A. Volk: Über den Einfluß der Ernährung auf die Empfänglichkeit der Pflanzen für Parasiten. Forschungen auf dem Geb. der Pflanzenkrankheiten und der Immunität im Pflanzenreich. Heft 3, p. 38.

[2]) Schaffnit u. Lüdtke, a. a. O.

beständigen Pflanzen der Fall ist — durch Wasserentzug infolge Eisbildung eine Reaktionsveränderung in dem einen oder anderen Sinne eintritt, in dem das jeweils vorhandene und bei wechselnder Ernährung verschiedene Puffersystem versagen würde. Die Reaktionsverschiebung des Preßsaftes durch das Abhärten ist unter den angegebenen Bedingungen nur für die Kartoffel nachweisbar gewesen. Im Preßsaft von Vicia villosa und Pisum sativum, die einmal im Gewächshaus bei ca. 20° und zum andern in der Kältezelle bei + 2° bis + 3° gestanden hatten, wobei allerdings auch die Lichtverhältnisse verschieden waren, sind am 2. März 1932 folgende Werte gemessen worden: Gewächshaus (Temp. um 20°), Kühlzelle (Temp. + 2° bis + 3°): Pisum sativum pH = 6,59 bzw 6,50, Vicia villosa pH = 6,82 bzw. 6,79.

C. Trockengewicht.

Über die unter dem Einfluß verschiedener Ernährung und des Abhärtens auftretenden Veränderungen im Trockensubstanzgehalt des Preßsaftes hat das Refraktometer Aufschluß gegeben. Die folgenden Bestimmungen orientieren über die Veränderungen im Gesamttrockensubstanzgehalt der oberirdischen Teile unter den nämlichen Versuchsbedingungen.

Um Störungen durch den Tagesverlauf der Transpiration zu vermeiden, wurde das Frischgewicht stets nur vormittags um 8 Uhr durch direktes rasches Wiegen der krautigen Pflanzen bestimmt. Das Trockengewicht wurde nach dem Trocknen bei 105° bis zur Gewichtskonstanz ermittelt. Die folgenden Tabellen geben das Trockengewicht in % des Frischgewichtes von abgehärteten bzw. nicht abgehärteten Pflanzen an. Die Tomaten waren in Töpfen mit Komposterde gezogen, die Kartoffeln, wie üblich, in Vegetationsgefäßen gewachsen. Die Tomaten standen bei + 7° bzw. 20°. Die Kartoffeln wurden bis zum 3. 9. 31 in der Vegetationshalle herangezogen und dann auf 10 Tage in die Kältezellen bei + 6° bzw. + 20° gebracht.

Die Trockensubstanzbestimmungen von je drei abgehärteten bzw. nicht abgehärteten Tomatenpflanzen ergaben in % des Frischgewichtes ausgedrückt 9,86; 9,61; 9,69 bzw. 6,15; 6,32 und 6,19. Daraus ergibt sich für die abgehärteten Tomaten ein um die Hälfte der bei höherer Temperatur gehaltenen Pflanzen erhöhter Trockensubstanzgehalt. Damit stimmen die erhöhten Refraktometerwerte des Preßsaftes abgehärteter Pflanzen überein. Die Verringerung des Wassergehaltes von rund 94 % auf rund 90 % der Frischsubstanz ist jedoch als gering zu bezeichnen. In Übereinstimmung mit diesem Befund steht die nur geringe Senkung der Erfriertemperatur abgehärteter Pflanzen.

Im Gegensatz zu der deutlichen Trockensubstanzzunahme bei den Tomaten stehen die mit verschieden ernährten Kartoffeln bei der nämlichen Vorbehandlung erhaltenen Ergebnisse. Es ist aber darauf hinzuweisen, daß diese Resultate im September gewonnen wurden, und die Pflanzen durch kühle Witterung schon etwas abgehärtet waren, bevor sie

in die Kühlzelle kamen, und daß die Lichtverhältnisse auf der Nordseite des Hauses nicht günstig waren. Die Nachwirkungen der Anzuchttemperatur scheinen demnach durch die zehntägige unterschiedliche Temperatureinwirkung nicht behoben worden zu sein.

Tabelle 5.
Kartoffeln.
Trockengewicht in % des Frischgewichtes.

Ernährung	Nicht abgehärtet	Abgehärtet
n	8,39	8,19
K +	8,64	8,69
K —	11,10	10,60
N +	9,43	9,18
N —	8,39	8,15
P +	8,79	8,43
P —	11,85	—

Während zwischen abgehärteten und nicht abgehärteten Pflanzen kein deutlicher Unterschied besteht, variieren die Trockengewichte der einzelnen Ernährungsformen merklich. Den höchsten Trockensubstanzgehalt weisen die P — Pflanzen auf, es folgen die K — und dann die N + Pflanzen, während für die Pflanzen der übrigen Reihen keine bestimmte Reihenfolge angegeben werden kann.

Die Werte können nicht unmittelbar in Beziehung zu den von Kartoffeln ermittelten Refraktometerwerten gesetzt werden, da sie an anderen Pflanzen unter anderen Bedingungen gewonnen sind.

Zwischen Frostresistenz und dem Gehalt an Trockensubstanz besteht für die einzelnen Ernährungsreihen keine Beziehung, besonders im Hinblick auf das gegensätzliche Verhalten der N — und K — Pflanzen.

D. Kohlenhydratdynamik bei Tomate und Kartoffel.

Die Methodik der Zuckeranalyse war die gleiche, wie sie bei Tumanow[1]) und ausführlicher bei Vassielew[2]) beschrieben ist. Von einer Fällung der Eiweißkörper wurde abgesehen, da orientierenden Versuchen zufolge keine größere Genauigkeit erzielt wurde. Dabei sind wir uns der Mängel, die der Methode notwendigerweise anhaften, bewußt. Wir beziehen zwar auf Monosen und Biosen, messen jedoch nur die Summe der freien Aldehydgruppen, wobei bei der Bestimmung der Monosen der Anteil der freien Aldehydgruppen der Biosen und höheren Polymeren unbekannt bleibt. Sind letztere aber vorhanden und reagieren sie im ersten Auszug nur mit einer Aldehydgruppe, während sie nach der Säurehydrolyse z. B. mit 4 reduzierenden Spaltprodukten erscheinen, so wird die Berechnung der Biosen zu hoch ausfallen. Immerhin erscheint uns diese Methode zu unseren Untersuchungen brauchbar und gibt bei den vorhandenen Differenzen hinreichend genaue Werte.

[1]) Tumanow, I. I.: Das Abhärten winterannueller Pflanzen gegen nied. Temperaturen. Phytopathol. Zeitschr. 3, 303, 1931.

[2]) Vassielew, J. M.: Untersuchungen über die Dynamik der Kohlenhydrate bei dem Weizen. (Archiv für Pflanzenbau **7**, 126, 1932.)

1. Tomate.

Im Gewächshaus herangezogene Tomatenpflanzen wurden am 15. 4., abends 18 Uhr, in die auf + 3° gekühlte Zelle gebracht, ein Teil wurde am Licht gehalten, ein anderer verdunkelt. Die Kohlenhydrate wurden in Blättern mittleren Alters bestimmt, und zwar am 18. 4. und 21. 4. bzw. am 15. 4. Es ergaben sich die in Tabelle 7 und Abb. 7 zusammengestellten Kohlenhydratmengen in 1 g Trockensubstanz.

Tabelle 6.

mg Kohlenhydrate in 1 g Trockensubstanz von Tomaten: a) aus dem Gewächshaus, b und c) aus der Kühlzelle nach 3 bzw. 6 Tagen.

	Datum	Monosen	Biosen	Stärke
a) Gewächshaus	15. April	62,41	20,31	218,28
b) Kühlzelle am Licht	18. „	100,4	39,92	123,98
„ „ „	21. „	124,3	50,62	15,23
c) Kühlzelle, verdunkelt . . .	18. „	80,17	28,20	63,34
„ „ . . .	21. „	114,9	40,73	11,57

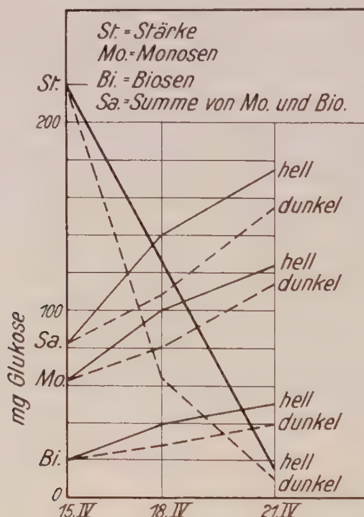


Abb. 9.

Veränderung des Kohlenhydratgehaltes von Tomaten bei + 3°.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß auch bei den Tomaten unter dem Einfluß niederer Temperatur eine weitgehende Zuckeranhäufung statt hat und zwar in erster Linie auf Kosten der Stärke, die bei den belichteten Pflanzen weniger rasch abnimmt als bei den dunkel gehaltenen Pflanzen. Daneben trägt auch die Kohlensäure-Assimilation zur Vermehrung des Zuckers bei, da in den belichteten Pflanzen nach der nämlichen Zeit größere Zuckermengen gefunden werden als bei den verdunkelten und umgekehrt geringere Stärkemengen gelöst werden. Nach fünf Tagen ist die Gesamtzuckermenge bei den am Licht stehenden

Pflanzen verdoppelt, wobei sich die Biosen etwas rascher vermehren als die Monosen.

2. Kartoffel.

Die Veränderungen der Kohlenhydrate in der Kartoffelpflanze, wie sie sich unter dem Einfluß verschiedener Ernährung und des Abhärtens ergeben, sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt. Die Zahlen bedeuten mg Monosen und Biosen in 1 g Trockensubstanz. Zur Analyse dienten Pflanzen derselben Ernährungsreihen, die zur Trockensubstanzbestimmung verwendet wurden, so daß diese Werte mit jenen direkt vergleichbar sind.

Tabelle 7.

mg Kohlenhydrate in 1 g Trockensubstanz von verschieden ernährten Kartoffeln.

	Nicht abgehärtet Temp. 20°			Abgehärtet Temp. 6—7°		
	Monosen	Biosen	Summe	Monosen	Biosen	Summe
n	28,99	12,03	41,02	40,67	9,43	50,10
K +	36,45	15,42	51,87	42,91	9,729	52,64
K —	36,33	11,88	48,21	49,02	24,51	73,53
N +	32,75	13,56	46,31	48,31	25,07	73,38
N —	72,19	15.75	87,94	96,34	27,54	123,88
P +	45,59	14,17	59,76	51,86	34,44	86,30
P —	59,03	11,41	70,44			

Stärke war nach der makroskopischen Jodprobe nur in Spuren vorhanden. Von einer quantitativen Analyse der osmotisch unwirksamen Stärke konnte im Hinblick auf das Ziel unserer Untersuchungen abgesehen werden. Was den Gesamtzuckergehalt betrifft, so stehen die N— und P—Pflanzen an erster Stelle; die Reihenfolge bleibt nach dem Abhärten für die N—Pflanzen gewahrt. Nach später folgenden Versuchen ist das Gleiche auch für die P—Pflanzen anzunehmen. Das Verhältnis der Monosen zu den Biosen ist bei dieser Versuchsreihe unter dem Einfluß des Abhärtens nicht in gleicher Richtung verschoben: bei den normal ernährten und Kaliüberschuß-Pflanzen nehmen die Biosen ab, während in den anderen Reihen ebenfalls wie bei den Monosen eine Zunahme zu verzeichnen ist. Auffallend ist, daß die K+Pflanzen unter den gleichen Bedingungen den Gesamtzuckergehalt am wenigsten, von 51,87 auf 52,64 erhöhen. Ziemlich gleichmäßig haben dagegen die N+ und K—Pflanzen die Zucker vermehrt. Aus dieser Tatsache kann, wenn wir die N— und P—Pflanzen aus besonderen Gründen unberücksichtigt lassen und unsere Ansicht, daß unter unseren Versuchsbedingungen die niedere Temperatur die Wasserökonomie beeinflußt, zu Recht besteht, indirekt auf die günstige Rolle des Kaliums im Wasserhaushalt geschlossen werden, da

Iljin[1]) beweisen konnte, daß der Zuckergehalt derselben Pflanze mit der Abnahme der Standortsfeuchtigkeit steigt, d. h. also je schwieriger die Wasserversorgung sich gestaltet, desto mehr Zucker bildet die Pflanze. Die Kalimangelpflanzen und ebenso die N- und P-Überschußpflanzen, die ja relativ schlecht mit Kali versehen sind, hätten demnach eher unter Bilanzschwierigkeiten zu leiden als die K+Pflanzen.

Jedenfalls erscheint es fraglich, ob nach diesen Befunden unter den unseren Versuche zugrunde gelegten Bedingungen eine spezifische Temperaturwirkung auf den Kohlenhydratstoffwechsel der K+-Pflanzen

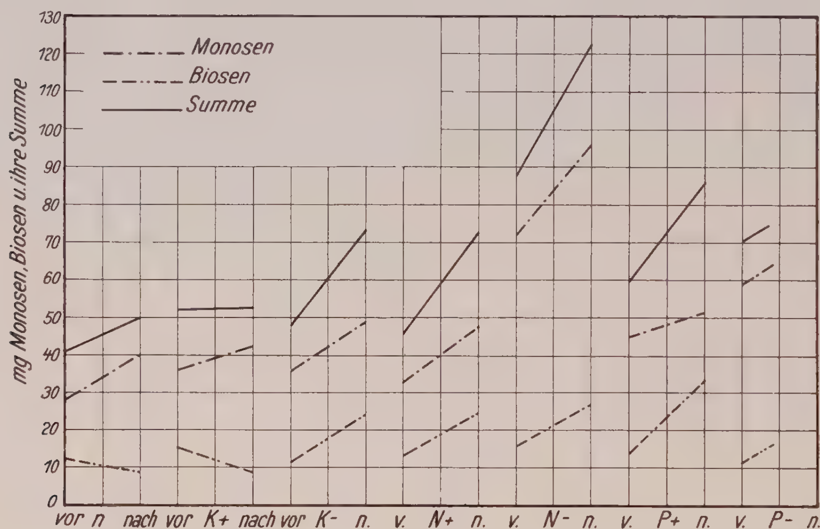


Abb. 10.
Veränderung des Kohlenhydratgehaltes durch das Abhärten auf 1 g Trockensubstanz bezogen.

stattgehabt hat, während bei allen anderen Ernährungsreihen der Zuckergehalt erhöht worden ist. Eine übersichtliche Darstellung dieser Verhältnisse gibt Abb. 10.

E. Osmotischer Wert.

Direkte Beziehungen zwischen dem osmotischen Wert und der Kälteresistenz von nahe verwandten Pflanzen sind nach der vorliegenden Literatur[2]) mehrfach festgestellt worden. Andererseits ist durch die Unter-

[1]) Iljin, W. S.: Standortfeuchtigkeit und Zuckergehalt in den Pflanzen, Planta 7, S. 59. 1929 a.

[2]) Vergleiche A. Ackerman: Studien üb. d. Kältetod u. d. Kälteresistenz d. Pfl. neben Unters. über d. Winterfestigkeit des Weizens. Lund 1927; und I. I. Tumanow und I. Borodin: Untersuchungen über die Kälteresistenz von Winterkulturen durch direktes Gefrieren und indirekte Methoden. Phytopathol. Zeitschr. I, 1930, 576.

suchungen von Rein[1]) schon eindeutig bewiesen, daß zwischen dem osmotischen Wert des Zellsaftes und der Erfriertemperatur von Pflanzen weiterer Verwandtschaftsgrade kein Zusammenhang besteht. Ferner geht aus Maximows[2]) Versuchen hervor, daß die Schutzwirkung eines Stoffes nicht in direktem Zusammenhang mit dem osmotischen Wert und der Gefrierpunktserniedrigung steht, da mit der Konzentrationserhöhung eines Schutzstoffes die Kälteresistenz bedeutend rascher wächst als die Depression.

1. Tomate.

Der osmotische Wert von im Gewächshaus stehenden und verschieden ernährten Tomaten wurde bei Grenzplasmolyse bestimmt. An abgehärteten Pflanzen konnten leider gleichzeitig keine Bestimmungen ausgeführt werden. Da es bei unseren Untersuchungen nur auf die relative Höhe der Drucke ankam, dürften die Bestimmungen bei Grenzplasmolyse einwandfreie Resultate liefern: denn für etwa vorhandene Unterschiede in der Semipermeabilität der Plasmahaut hat sich nach orientierenden, aber unter andern Gesichtspunkten mit Kaliumnitratlösung angestellten Versuchen kein Anhalt ergeben. Zur Untersuchung wurden abgezogene Epidermisstückchen von der Mitte der Blattstiele mittleren Alters verwendet, so daß nur gleichwertiges Material verglichen wurde. Als Plasmolytika kamen Rohrzuckerlösungen in den angegebenen Abstufungen zur Anwendung. Nach orientierenden Versuchen über die ungefähre Höhe der Werte wurde die Bestimmung an einem Vormittag gleichzeitig vorgenommen. In der nun folgenden Tabelle bedeutet:

+ Plasmolyse nach einer halben Stunde ± Grenzplasmolyse. 0 keine Plasmolyse.

Tabelle 8.
Grenzplasmolysewerte von Tomaten am 19. April.

Rohrzuckerlösung %	n	K +	K —	N +	N —	P +	P —
6			0				
6,5			±				
6,75			+				
7							
7,25	0					0	
7,5	±	0		0		±	
7,75	+	±		±		+	
8		+		+			
—							
9					0		
9,25					±		0
9,5					+		±
10							+

[1]) Rein, R.: Untersuchungen über den Kältetod der Pflanze. Zeitschr. f. Naturwissenschaften Bd. 80, 1908, S. 1.

[2]) Maximow, N. A.: Chemische Schutzmittel d. Pflanzen gegen Erfrieren. I. Ber. d. d. Bot. Gesellsch. 30, 1912, S. 52.

Aus der Zusammenstellung ist der hohe Wert der N— und P—Pflanzen ersichtlich; der niedrigste Wert wurde für die K—Pflanzen gemessen. Eine Mittelstellung nehmen die übrigen Reihen ein, wobei die Phosphorüberschuß- und normal ernährten Pflanzen ihrerseits etwas niedrigere Werte haben als die K+ und N+Pflanzen. Die gefundenen, nur durch verschiedenartige Ernährung bedingten Unterschiede in der Höhe der osmotischen Werte lassen wieder die Sonderstellung der K—Pflanzen erkennen.

2. Kartoffel.

Für Kartoffeln wurde der osmotische Wert durch Gefrierpunktsbestimmung des Preßsaftes, der nach der eingangs beschriebenen Methode hergestellt war, im kleinen Beckmannschen Apparat ermittelt. Leider konnte mangels genügenden Materials kein vollständiges Bild gewonnen werden. Immerhin läßt sich das Grundsätzliche erkennen und in Beziehung zu den im 2. Teil vorliegenden Ergebnissen mit Getreidepflanzen setzen. Die Bestimmungen wurden am 21. und 22. 8. 31 mit abgehärteten und nicht abgehärteten Pflanzen ausgeführt und sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt.

Tabelle 9.
Gefrierpunktserniedrigung von Kartoffelpreßsaft.

Ernährung	Nicht abgehärtet	Abgehärtet
n	0,93°	1,09°
K+	0,90°	1,15°
K—	0,83°	
N—		0,99°
P+	0,89°	1,08°

Ganz analog den Ergebnissen mit Tomaten besitzen die bei geringer Kaliernährung gezogenen Kartoffeln den niedrigsten osmotischen Wert. Aus der Tabelle ist ferner ersichtlich, daß unter dem Einfluß des Abhärtens der osmotische Wert sich erhöht. Er liegt für die untersuchten Pflanzen bei der K+Reihe am höchsten.

Bei den Versuchen ist zwar der Salzgehalt des Bodens, der bekanntlich ebenfalls den osmotischen Wert beeinflußt und bei den K+ Reihen höher sein muß als bei fehlender Kaligabe, nicht berücksichtigt. Im Hinblick aber auf die hohen osmotischen Werte bei den P— und N—Mangelpflanzen und die relativ niedrigen bei P- und N-Überschußpflanzen dürften jedoch die gefundenen Differenzen nicht auf den Salzgehalt des Bodens, sondern auf innere Faktoren zurückzuführen sein.

d) Zusammenfassung der Ergebnisse.

Für abgehärtete Tomaten[1]) konnte festgestellt werden, daß der Gesamttrockensubstanzgehalt auf Frischgewicht bezogen um die Hälfte

[1]) Inwiefern nicht nur für winterannuelle, sondern auch für nicht kälteresistente Pflanzen zur sprachlichen Vereinfachung der Ausdruck Abhärtung gebraucht werden kann. ist auf Seite 523 dargelegt.

und der Trockensubstanzgehalt des Preßsaftes um rund $^1/_3$ des Wertes der bei höherer Temperatur gewachsenen Pflanzen vermehrt wird, und ferner, daß der Zuckergehalt bis auf das Doppelte ansteigt. Die Kartoffelpflanze hat unter den gleichen Bedingungen den osmotischen Wert des Zellsaftes erhöht, lösliche Zucker angehäuft und den Trockensubstanzgehalt des Zellsaftes nach den Ablesungen am Refraktometer zu urteilen auf rund das Doppelte vermehrt. Wir gehen nicht fehl, wenn wir annehmen, daß auch bei der Kartoffel unter anderen Versuchsbedingungen eine Zunahme des Trockensubstanzgehaltes auf Frischgewicht bezogen oder umgekehrt eine Entwässerung der Gewebe zu konstatieren gewesen wäre. Was die Erfriertemperatur der untersuchten Pflanzen betrifft, so konnte in Übereinstimmung mit den Untersuchungen Müller-Thurgaus[1]) und späterer Autoren durch unsere Versuche gezeigt werden, daß sie für die bei niederer Temperatur gehaltenen Pflanzen tiefer liegt als für die bei höherer Temperatur gewachsenen.

Unterschiede in bezug auf die Erfriertemperatur, den Zuckergehalt, den osmotischen Wert und Trockensubstanzgehalt haben sich außer durch Anzucht bei verschiedener Temperatur auch durch veränderte Mineralsalzernährung erzielen lassen.

Die in den verschieden ernährten Kartoffelpflanzen enthaltenen Zuckermengen auf 1 g Trockensubstanz berechnet, waren am höchsten bei N- und P-Mangel-, am geringsten bei K-Überschuß- und normaler Ernährung. Mittlere Zuckergehalte wiesen die K—, P+ und N+ Pflanzen auf.

Der Trockensubstanzgehalt auf Frischgewicht bezogen, war bei den K- und P-Mangelpflanzen am höchsten; die Pflanzen der übrigen Ernährungsformen zeigten diesbezüglich keinen deutlichen Unterschied.

Der refraktometrisch bestimmte Trockensubstanzgehalt des Preßsaftes erreichte bei beiden Versuchspflanzen den höchsten Wert bei Kalimangel. Auffallend niedrige Refraktometerwerte wurden bei den N — Pflanzen gemessen, die bei der Kartoffel den höchsten Zuckergehalt aufwiesen.

Die osmotischen Werte lagen am höchsten bei den P—, N— und K+ Pflanzen, am niedrigsten bei den K — Pflanzen.

Die Kühlversuche haben ergeben, daß die Erfriertemperatur der P— und N — Pflanzen tiefer als die der übrigen Ernährungsformen liegt. Den P- und N-Mangelpflanzen stehen die K+ Pflanzen zunächst. Letzteren folgen ohne deutlichen Unterschied die n-, N+ und P+ Pflanzen, während die K— Pflanzen von allen Reihen die höchsten Erfriertemperaturen aufweisen.

Bei über null Grad gelegenen Temperaturen hat veränderte Stick-

[1]) Müller-Thurgau, H.: Über das Gefrieren und Erfrieren der Pflanzen. Landw. Jahrb. Bd. 9, 1880, S. 133.

stoff- und Phosphordüngung keinen deutlichen Einfluß auf das Verhalten der Kartoffel und Tomate erkennen lassen; dagegen wurde mit einer Steigerung der Kaligaben die Widerstandsfähigkeit gegenüber den bei diesen Temperaturen auftretenden Krankheitserscheinungen erhöht.

III. Versuche mit Getreide. Allgemeines über die angewandte Methodik und das verwendete Versuchsmaterial.

Über die Versuchsmethodik soll hier nur das Allgemeine vorausgeschickt und das Besondere an den einschlägigen Stellen mitgeteilt werden.

Als Versuchspflanzen dienten Orig. Berkners Continental Winterweizen, Friedrichswerther Berg Wintergerste, F. von Lochows Petkuser Winterroggen und Griesings Sporen-Winterhafer. Die Anzucht der Pflanzen für die Gefrierversuche erfolgte in viereckigen 16×16 cm breiten und 12 cm hohen Tontöpfen mit einem Fassungsvermögen von 2 kg Sand-Torf. Jeder Topf enthielt 9 Pflanzen. Zur Preßsaftgewinnung usw. wurde das Material in Holzkästen herangezogen, die 88 Pflanzen enthielten. Als Substrat diente ein Sand-Torf-Gemisch, wie es in früheren Versuchen verwendet wurde. Der benutzte Flußsand war nicht vollkommen nährstofffrei, wie vor allem die Roggen- und Haferkulturen erkennen ließen. Ferner mögen die aus unglasiertem Ton bestehenden Gefäße etwas Kali geliefert haben. Die Düngung betrug für die Töpfe von 2 kg Inhalt mit je 9 Pflanzen in den Normalreihen 0,95 g Ammonnitrat, 0,53 g Kaliumchlorid und 0,44 g Monokalziumphosphat. Die Nährstoffe wurden einzeln gelöst und dem Sand-Torf unter guter Durchmischung zugegeben. Die Mangelpflanzen blieben ohne Zusatz der betreffenden Nährstoffe. Die Überschußpflanzen erhielten die doppelte Normalgabe.

Die Versuchspflanzen kamen stets im Entwicklungszustand der Bestockung zur Verwendung. Zu diesem Zeitpunkt waren die Ernährungsunterschiede schon deutlich erkennbar. Die Wirkung der verschiedenen Mineralsalzernährung machte sich bei den einzelnen Reihen in der bekannten typischen Form geltend. Wir brauchen auf diese Dinge hier nicht mehr einzugehen, sondern verweisen auf ältere Publikationen über Ernährungsversuche. Es sei aber erwähnt, daß alle Ernährungsunterschiede prinzipiell am stärksten bei der Gerste, am wenigsten bei Roggen und Hafer ausgeprägt waren; eine Mittelstellung nahm in dieser Hinsicht der Weizen ein.

Zur Trockengewichtsbestimmung wurde die Frischsubstanz von oberirdischen Pflanzenteilen immer nur morgens um 8 Uhr entnommen; ebenso wurden Preßsäfte nur aus vormittags entnommenem Material hergestellt und sofort zu den betreffenden Messungen benutzt. Die Verarbeitung geschah, wie eingangs angegeben ist. Es wäre methodisch einwandfreier gewesen, nur bestimmte Pflanzenteile, z. B. Blätter bestimmten Alters, unter Ausschluß der jüngsten und ältesten zu verwenden. Die gefundenen Unterschiede sind aber im allgemeinen so groß, daß das Gesamtbild sicher keine Verschiebung erfahren hätte.

Zur Abhärtung kamen die Pflanzen, nachdem sie in der anfangs offenen, später geschlossenen ungeheizten Vegetationshalle herangezogen worden waren, in die an die Kälteanlage angeschlossenen Glashauszellen, wo sie bei den gewünschten Temperaturen bis zu 3 Wochen verblieben.

Bevor die Pflanzen in den eigentlichen Kühlschrank gebracht wurden, wurden sie auf die Dauer von 24 Stunden einer Temperatur von -2^{0} ausgesetzt. Die Temperatur im Schrank wurde mittels Fueß'schem Thermographen registriert und gewöhnlich auf 1^{0} tiefer als gewünscht eingestellt. Nach Einbringen der Pflanzen stieg dann die Temperatur während 24 Stunden um ungefähr 1^{0}. Es kam jedoch manchmal vor, daß die Temperatur während des Versuches infolge Nachkühlung fiel und daß infolgedessen die Blätter der Pflanzen in einzelnen Versuchen zu weit abfroren, während ein mittlerer Schädigungsgrad erwünscht

war. Dadurch erklären sich bei einzelnen Versuchen in erster Linie die hohen Anteile an erfrorener Substanz. Manche Versuche konnten aus demselben Grunde nicht ausgewertet werden. Jeder Versuch wurde mindestens viermal, und zwar an verschiedenen Tagen durchgeführt, wobei natürlich der Temperaturverlauf niemals ganz der gleiche war. Dadurch, daß verschiedene Versuche auch zu ganz anderen Zeiten mit dem nämlichen Erfolg angestellt wurden, ist die Sicherheit der Resultate erhöht.

Zur Feststellung des Beschädigungsgrades wurde nach Tumanow[1]) verfahren. Die abgestorbenen und überlebenden Pflanzenteile wurden nach durchschnittlich 5—9 Tagen getrennt, bis zur Gewichtskonstanz bei 105° getrocknet und gewogen. Die abgestorbenen Pflanzenteile sind in % der oberirdischen Gesamtpflanzenmasse ausgedrückt. In wenigen Versuchen sind auch die völlig abgestorbenen Pflanzen gezählt und in Vergleich zu den nach 2 Wochen noch überlebenden gesetzt. Die erstere Methode hat den Vorteil, daß sie keine so hohe Individuenzahl erfordert, um zu gesicherten Resultaten zu kommen, und wird auch von Gaßner[2]) bei den Frosthärtebestimmungen von Sorten mit Erfolg angewendet. Vor jedem Versuch wurden etwa beschädigte bzw. schon vergilbte Blätter von N — Pflanzen entfernt.

Von vornherein sei bemerkt, daß die gewonnenen Werte keine absolute Gültigkeit haben, sondern nur innerhalb derselben Reihen vergleichbar sind. Es können z. B. nicht die Zuckerwerte von Gerste zu denen von Roggen in Beziehung gesetzt werden; denn der Gang der Untersuchungen brachte es mit sich, daß nicht alle Versuche gleicher Art auch gleichzeitig angestellt werden konnten. Wie sehr aber Kälteresistenz und die physikalisch-chemisch meßbaren Konstanten der Zelle mit veränderten Licht- und Temperaturverhältnissen schwanken, geht aus allen diesbezüglichen Arbeiten zur Genüge hervor.

a) Kühlversuche mit verschieden ernährtem abgehärteten Getreide bei 24stündiger Kühldauer und tiefen Temperaturen.

1. Gerste.

Die Aussaat fand am 31. August 1931 statt. Die Pflanzen standen auf Wagen im Freien bzw. in der Vegetationshalle. Zur Abhärtung wurden sie auf 14—20 Tage in das auf + 3 bis + 4° gekühlte Gewächshaus gebracht. Die Kühlversuche fanden Anfang Oktober statt. Nachdem in Vorversuchen die ungefähre Lage des Todpunktes festgestellt worden war, ein Verfahren, das sich natürlich für alle anderen Getreidearten ebenfalls als notwendig erwies, wurde bei — 11 bis — 13° die relative Frosthärte der Ernährungsreihen bestimmt. Die folgende Übersicht gibt die abgestorbenen Pflanzenteile in % der oberirdischen Gesamtpflanzenmasse an.

Tabelle 10.

Gerste während 24 Stunden im Kältebad von — 11 bis — 13°.

Ernährung	1	2	3	4
	% tote Teile	% tote Teile	% tote Teile	% tote Teile
n	24,92	23,00	20,75	12,16
K +	36,73	29,13	20,31	15,04
K —	38,28	32,58	36,48	29,21
N +	28,06	30,94	19,63	17,39
N —	54,84	44,00	33,33	31,15
P +	38,35	25,96	21,52	13,85
P —	52,63	54,93	39,45	29,47

[1]) Tumanow, I. I.: Das Abhärten winterannueller Pflanzen gegen niedere Temperaturen. (Phytopathol. Zeitschr. **3**, 304, 1931.)

[2]) Gaßner, G. und Rabien, H.: Über die Durchführung von Frosthärteprüfungen von Getreidezuchtstämmen. (Der Züchter **3**, 297, 1931.)

Aus der Zusammenstellung geht eindeutig hervor, daß die P— und N—Pflanzen am meisten Schaden genommen haben, die K—Pflanzen sind gegenüber den Kaliüberschuß- und normal ernährten Pflanzen ebenfalls im Nachteil, wenn die Unterschiede in allen Versuchen auch nicht so klar hervortreten, wie bei den N und P—Reihen. Am wenigsten sind durchweg die normal ernährten und in ungefähr gleichem Grade die Überschußpflanzen geschädigt worden.

2. Weizen.

Aussaat des Weizens am 17. 8., Pflanzen standen unter denselben Bedingungen wie die Gerste. Abhärtungstemperatur +2°. Kühlversuche am 16. 10. und später, und zwar bei —12° bis —13°.

Das Ergebnis der Versuche ist in der nächsten Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 11.

Weizen während 24 Stunden im Kältebad von —12 bis —13°, bzw. —8°.

Ernährung	Weizen abgehärtet				Weizen nicht abgehärtet
	1	2	3	4	
	% tote Teile	% tote Teile	% tote Teile	% tote Teile	% tote Teile
a	23,17	29,67	13,99	19,17	54,12
K+	32,48	30,55	25 29	15,33	53,60
K—	21,84	22,09	16,80	15,53	58,73
N+	23,17	21,91	23,81	14,53	58,72
N—	38,71	45,71	35,71	31,43	78,13
P+	31,54	20,51	25,73	18,75	
P—	37,84	38,95	32,35	32,53	71,56

Auch bei Weizen wiesen die N— und P—Pflanzen stets die stärkste Beschädigung auf. Am wenigsten waren die K—Pflanzen erfroren; letzteren zunächst stehen die N+Pflanzen. Die normal ernährten, die K+ und P+Pflanzen haben in ungefähr gleichem Maße gelitten. Die Beurteilung der Schäden nur nach dem äußeren Bilde hätte einen Unterschied zwischen normal ernährten, Kalimangel- und -Überschuß-Pflanzen nur schwer erkennen lassen, dagegen fiel das Verhalten der N— und P—Pflanzen deutlich in die Augen.

Die letzte Rubrik der Tabelle enthält das Ergebnis eines Versuchs, in dem nicht abgehärtete Pflanzen bei —8° gefroren wurden. Die geringste Frostresistenz der N— und P—Pflanzen kommt auch hier klar zum Ausdruck.

3. Roggen.

Aussaat des Roggens am 22. 8. 31 bzw. Ende Februar 32. Abhärtung während 14—18 Tagen bei +1° bis +2°. Gefrierversuche 1 und 2 am 12. 10. 31 bzw. 1a und 2a am 16. 4. 32 bei —14°. Die Resultate sind in der folgenden Zusammenstellung wiedergegeben.

Tabelle 12.

Roggen während 24 Stunden im Kältebad von — 15°.

Ernährung	1	2	3	4
	% tote Teile	% tote Teile	% tote Teile	% tote Teile
n	31,29	30,79	76,92	38,58
K +	26,34	30,60	77,42	30,08
K —	31,98	28,97	76,27	52,97
N +	40,28	36,94	59,34	41,27
N —	40,66	38,60	88,89	52,27
P +	31,64	14,63	71,47	44,28
P —	64,70	69,32	91,11	84,55

Mit Sicherheit läßt sich nur die geringere Widerstandsfähigkeit der P—Reihen feststellen; ferner sind die N—Pflanzen durchweg etwas mehr beschädigt als die Pflanzen der übrigen Ernährungsformen. Über die Stellung der K—, der normal ernährten und der Überschußreihen kann aus obigen Versuchen kein Urteil abgegeben werden. Unter unseren Versuchsbedingungen verhielten sie sich ziemlich gleich. Es ist schon vorher erwähnt, daß bei Roggen und Hafer die Ernährungsunterschiede nicht sehr deutlich hervortraten.

4. Hafer.

Aussaat des Hafers Ende November 31 bzw. am 1. Februar 32. Abhärtung während 10—16 Tagen bei +3 bis +4° in der ungeheizten Vegetationshalle, wo Temperatur nur selten unter 0°. Gefrierversuche am 9. 1. bei —7° bzw. am 8. 4. und später bei —12°.

Auffallend war hier die bedeutende Resistenzerhöhung der späteren Aussaat. Schon bei der Anzucht war festzustellen, daß Ernährungsunterschiede der ersten Reihen kaum erkennbar hervortraten; die Bestockung war an sich gering und diesbezüglich ein Unterschied nur bei den P—Pflanzen vorhanden. Nach dem Äußeren zu urteilen, schienen die Pflanzen unter Lichtmangel zu leiden. Entsprechend der besseren Belichtung waren die im Frühjahr gezogenen Pflanzen gut bestockt, ihr Wuchs war gedrungen und die Blattfarbe, abgesehen von den Ernährungsmerkmalen, dunkelgrün. Die verschiedene Mineralsalzernährung kam bei den N— und P—Reihen deutlich, bei den N+ und P+Reihen schwächer, bei den übrigen, einschließlich der K—Reihen äußerlich überhaupt nicht zum Ausdruck. In der folgenden Tabelle ist das Ergebnis der Gefrierversuche festgehalten.

Aus der Tabelle läßt sich mit Sicherheit folgern, daß die N— und P—Pflanzen die geringste Frostresistenz aufweisen. Die Pflanzen der übrigen Reihen sind in ungefähr gleichem Maße beschädigt worden. Der hohe Schädigungsgrad der N+Pflanzen des zweiten Versuches fällt außer der Reihe und erreicht fast den der N—Pflanzen. Die P—Pflanzen sind aber in demselben Versuch völlig erfroren.

Tabelle 13.

Kühlversuche mit Hafer bei — 7 bzw. — 12° und einer Zeitdauer von 24 Stunden.

Ernährung	1. Am 9. Januar 1932 bei — 7°	2. bei — 12° am 8. April	3. bei — 12° am 9. April
	% tote Teile	% tote Teile	% tote Teile
n	48,48	46,67	52,56
K +	41,83	47,69	60,81
K —	37,85	40,26	69,88
N +	38,20	66,67	69,70
N —	64,38	68,42	100,00
P +	40,82	50,62	67,68
P —	58,25	100,00	100,00

b) Kühlversuche bei weniger tiefer Temperatur und längerer Dauer des Kältebades.

In den folgenden Versuchen sollte vor allen Dingen dem Zeitfaktor Rechnung getragen werden. Die Bedeutung des Zeitfaktors für den Ablauf lebenswichtiger Stoffwechselprozesse ist schon früher [1]) betont worden und konnte in den Versuchen mit den als nicht eisbeständig geltenden Pflanzen, die verschieden ernährt waren und wenige Grade über Null gelegenen Temperaturen während längerer Zeit ausgesetzt wurden, bestätigt werden. Der Zeitfaktor scheint aber auch für das Auswintern von Getreide, soweit es temperaturbedingt ist, von großer praktischer Bedeutung, da im Winter niedere Temperaturen gewöhnlich während längerer Zeit auf die Vegetation einwirken und andererseits eine einmalige kurzdauernde Abkühlung auf verhältnismäßig tiefe Temperaturen seltener vorkommen dürfte. Zu den Versuchen wurden deshalb solche Temperaturen gewählt, die wohl ein Gefrieren der Pflanzen zur Folge hatten, bei denen sich aber nach 24 Stunden noch keine Schäden zeigten.

1. Gerste.

Die Versuchspflanzen wurden in den nämlichen Töpfen wie zu den vorhergehenden Versuchen herangezogen. Sie standen in der Vegetationshalle, wo die Temperatur an einzelnen Tagen bis auf — 3° sank. Im Entwicklungsstadium der Bestockung wurden sie zur Abhärtung in die Kühlzellen gebracht, wo die Temperatur auf + 3 bis + 4° eingestellt war [2]). Das Abhärten dauerte vom 30. 12. 31 bis 7. 1. 32. Am Abend des 7. 1. kamen 5 Versuchsreihen in den auf — 2° gekühlten, dunkel gehaltenen, zum Tiefkühlschrank führenden Vorraum. Vom 8. 1. abends ab wurde die Temperatur auf — 6° bis — 7° C eingestellt. Am 15. 1., 18. 1., 21. 1., 24. 1. wurde je eine gekühlte Reihe ins Gewächshaus gebracht, wo eine mittlere Temperatur von 12° herrschte. Der Grad der jeweiligen Schädigung wurde durch Auszählen der völlig abgestorbenen Pflanzen am 6. 2. 32 bestimmt. In der folgenden Zusammenstellung ist die Anzahl der von den jeweils 9 Pflanzen lebend gebliebenen angegeben.

---

[1]) Schaffnit und Lüdtke a. a. O.

[2]) Nach Tumanow a. a. O. ist diese Temperatur für die Abhärtung von Gerste am günstigsten.

Tabelle 14.
Anzahl der jeweils lebendgebliebenen Pflanzen.

Ernährung	7. Januar bis 15. Januar	7. Januar bis 17. Januar	7. Januar bis 18. Januar	7. Januar bis 21. Januar	bis 24. Januar
n	6	6	3	2	0
K +	9	9	7	6	2
K —	4	0	0	0	0
N +	7	4	4	5	1
N —	9	9	9	9	8
P +	7	4	4	6	1
P —	9	7	7	7	3

Das beifolgende Bild zeigt von links nach rechts die Kaliüberschuß-, normal ernährten und Kalimangel-Pflanzen des zweiten Versuchs.



Abb. 11.
Gerste, links K +, Mitte normal ernährt, rechts K —: gekühlt bei — 7° vom 7. bis 17. Januar.

Wie aus Tabelle 14 hervorgeht, wiesen unter den gegebenen Bedingungen die N — Pflanzen die höchste Resistenz auf, weniger widerstandsfähig waren die P — und K + Pflanzen; ihnen folgten die P +, N + und die normal ernährten Pflanzen. Am wenigsten resistent waren die K — Pflanzen.

Tabelle 15.
Weizen im Kältebad von — 7° C.

Ernährung	1. Vom 23. Januar bis 11. Februar	2. Vom 1. April bis 14. April	3. Vom 1. April bis 19. April
	% tote Teile	% tote Teile	% tote Teile
n	48,61	7,41	61,79
K +	42,55	14,55	56,32
K —	64,10	96,84	70,51
N +	69,81	25,10	72,49
N —	45,61	0	48,10
P +	55,56	15,29	64,15
P —	41,82	6,897	42,68

2. Weizen.

Die erste Versuchsreihe dieser Pflanzen wurde vom 23. 1. bis 11. 2. bei — 6 bis — 7° gekühlt. Bei der zweiten Versuchsreihe standen die Pflanzen vom 1. 4. ab bis zum 14. bzw. 19. 4. bei — 6 bis — 7°. Das Versuchsmaterial war nach Anzucht in der Vege-

tationshalle während 15 Tagen abgehärtet worden. Bei der Auswertung der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, daß die N — und P — Pflanzen auch normalerweise etwas Blattsubstanz durch Absterben der Spitzen bzw. Vergilben der ältesten Blätter verloren hatten. Die abgestorbenen Pflanzenteile sind am 25. 2. bzw. am 25. 4. bestimmt worden. Das Ergebnis ist in der folgenden Übersicht zusammengestellt. Dazu ist zu bemerken, daß die Pflanzen des 3. Versuchs 14 Tage älter waren als die in Versuch 2 und daß in der Tabelle unter 3 das Material von 2 Reihen zusammengefaßt ist.

Die beifolgende Abbildung zeigt die Kaliüberschuß- und Kalimangelpflanzen des zweiten Versuchs (1. April bis 14. April) am 20. April 1932.



Abb. 12.
Weizen: links K +, rechts K —: gekühlt bei — 7° vom 1. bis 14. April.

Aus den Versuchen ist zu folgern, daß die N — und P — Pflanzen unter unseren Versuchsbedingungen die größte, die K — Pflanzen dagegen und ihnen zunächst die N + Pflanzen die geringste Widerstandsfähigkeit zeigten. Die K + Pflanzen stehen im Resistenzgrad den N — und P — Pflanzen am nächsten, ihnen folgen die P + und normal ernährten Pflanzen.

3. Roggen und Hafer.

Die Versuchsreihen mit Roggen kamen gleichzeitig mit denen des Weizens am 1. April, die mit Hafer am 19. April in den auf — 6° bis — 7° gekühlten Raum. Aus technischen Gründen war es nicht möglich, den Roggen tieferen Temperaturen auszusetzen, entsprechend dessen tiefer gelegener Erfriertemperatur. Gelegentlich vorgenommene Stichproben nach 14 Tagen, drei Wochen und vier Wochen ergaben nicht die geringste Schädigung des Roggens. Am 11. Mai mußte die Maschine der hohen Kosten wegen abgestellt werden. An diesem Tage war weder an Roggen noch an Hafer eine Schädigung zu erkennen.

c) Zusammenfassung der Ergebnisse der Kühlversuche.

Betrachten wir die Resultate der Kühlversuche in ihrer Gesamtheit, dann ergibt sich die für alle vier Getreidearten gemeinsame Tatsache, daß bei kürzerer Dauer des Kältebades und Einwirkung tiefer Temperatur

die N- und P—Pflanzen die geringste Frostresistenz aufwiesen; sie starben in manchen Reihen sogar völlig ab, wenn die übrigen Ernährungsformen nur erst geringe Schädigung zeigten. Genau umgekehrt lagen die Verhältnisse, wenn weniger tiefe Temperaturen längere Zeit einwirkten. In diesem Falle wiesen die N— und P—Pflanzen die größte Widerstandsfähigkeit auf. Andererseits wurden unter letzteren Bedingungen die K—Pflanzen am frühesten und stärksten beschädigt, während im ersten Falle eine Ausnahmestellung der K—Pflanzen nicht erkennbar war. Im Vergleich zu den normal ernährten Pflanzen ist der Einfluß der N- und P-Überschußernährung nicht in gleichem Maße hervorgetreten wie der Mangel dieser Nährstoffe unter beiden Versuchsbedingungen und der Kaliüberschuß bzw. -Mangel im letzteren Falle. Schematisch ließen sich die Versuchsergebnisse ungefähr so darstellen:

Bei kurz andauerndem Kältebad und tiefer Temperatur:
Resistent: n, K+, K—, N+ und P+Pflanzen;
nicht resistent: N— und P—Pflanzen.

Bei längerer Dauer des Kältebades und weniger tiefer Temperatur:
Resistent: N—, P— und K+ Pflanzen;
mittel-resistent: n, N+ und P+Pflanzen;
nicht resistent: K—Pflanzen.

Bei dem gleichsinnigen Verhalten der N— und P—Pflanzen einerseits und der K—Pflanzen andererseits aller untersuchter Getreidearten dürfte diesen Ergebnissen für unsere Winterkulturen allgemeinere Bedeutung zukommen.

d) Die beim Abhärtungsprozeß vor sich gehenden physiologischen Veränderungen verschieden ernährter Getreidepflanzen.

Im folgenden werden in der Hauptsache die Versuchsergebnisse mitgeteilt und die innerhalb der einzelnen Reihen sich ergebenden Unterschiede herausgearbeitet. Die Besprechung der Ergebnisse wird am Schluß im Zusammenhang mit einer kritischen Betrachtung der nach der Literatur die Kälteresistenz beeinflussenden Faktoren folgen. Es wurden festgestellt: die Anteile der Trockensubstanz und des Wassergehaltes am Frischgewicht der Pflanzen, die Refraktometerwerte und die Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes, die Zuckergehalte und in mehreren Fällen auch die pH-Werte des Preßsaftes. Über das Methodische ist im ersten Teil das Wesentliche mitgeteilt. Das Pflanzenmaterial wurde zwecks Raumersparnis in Holzkästen herangezogen unter Verwendung desselben Substrats und derselben Düngung wie bei den zu den Kühlversuchen verwendeten Pflanzen. Die Untersuchungen sind gewöhnlich gleichzeitig mit den entsprechenden Versuchen im Kältebad ausgeführt worden. Einige konnten erst nachträglich angestellt werden.

A. Trockensubstanzgehalt, Refraktometerwert, Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes und Kohlenhydrate.

1. Gerste.

Die folgende Tabelle enthält von Pflanzen, die im August gesät wurden und bis zum 21. und 22. Oktober in der Vegetationshalle gestanden hatten, also nicht abgehärtet waren, das Trockengewicht in Prozent des Frischgewichtes, den refraktometrisch ermittelten Trockensubstanzgehalt und die Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes. Die zweite Tabelle ist von gleichaltrigem Pflanzenmaterial gewonnen, das zur Abhärtung während 14 Tagen bei $+3^0$ bis $+4^0$ gestanden hatte. Die Bestimmungen sind am 21. und 22. bzw. am 23. und 24. Oktober stets nur vormittags ausgeführt worden.

Tabelle 16.

Gerste, nicht abgehärtet: Trockengewicht in % des Frischgewichts; Refraktometerwerte und Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes.

Ernährung	Frischgewicht in g	Trockengewicht in g	Trockengewicht in % des Frischgewichts	Refraktometerwerte 22°	Gefrierpunkts-erniedrigung
n	25,45	2,99	11,75	9,2	1,00°
K +	24,39	2,83	11,60	8,9	0,98°
K —	22,64	3,21	14,18	11,2	0,87°
N +	29,45	3,45	11,71	9,6	1,02°
N —	5,82	1,07	18,38	13,6	1,03°
P +	24,03	2,77	11,53	9,0	0,94°
P —	16,29	2,40	14,73	11,0	1,14$_0$

Tabelle 17.

Gerste, abgehärtet: Trockengewicht in % des Frischgewichts; Refraktometerwert und Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes.

Ernährung	Frischgewicht in g	Trockengewicht in g	Trockengewicht in % des Frischgewichts	Refraktometerwerte bei 22°	Gefrierpunkts-erniedrigung
n	27,83	4,25	15,27	12,0	1,24
K +	26,81	3,91	14,58	12,0	1,44
K —	20,52	3,91	19,06	15,0	1,24
N +	42,22	6,32	14,97	13,2	1,35
N —	10,03	1,92	19,14	15,8	1,42
P +	40,33	6,20	15,37	11,8	1,22
P —	14,415	2,52	17,55	13,9	1,50

Eine übersichtliche Darstellung der durch das Abhärten hervorgerufenen Veränderungen im Trockensubstanzgehalt, der Gefrierpunktserniedrigung und der Refraktometerwerte bringt Abb. 13.

Den höchsten Trockensubstanzgehalt haben bei der ersten Reihe die N—Pflanzen (18,38 %). Es folgen dann die P— und K—Pflanzen (14,73

und 14,18 %), die übrigen Reihen stehen auf gleicher Stufe mit rund 11,5 %.

Die Refraktometerwerte liegen in gleicher Richtung: am höchsten bei den N—, dann folgen die P— und K—Pflanzen. Die Reihenfolge verschiebt sich aber, wenn die Werte für die Gefrierpunktserniedrigung betrachtet werden: den höchsten Wert geben die P—Pflanzen (1,14⁰);

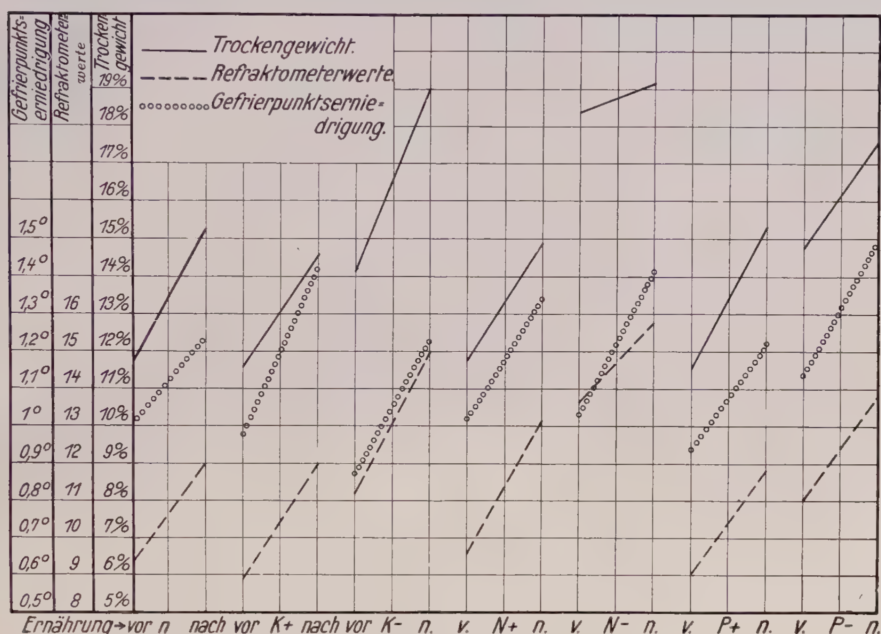


Abb. 13.

Gerste: Trockengewicht in Prozent des Frischgewichtes, Refraktometerwerte und Gefrierpunktserniedrigung vor und nach dem Abhärten.

es folgen die N— und N+Pflanzen mit 1,03⁰ und 1,02⁰; den geringsten Wert weisen die K—Pflanzen mit 0,87⁰, was mit Rücksicht auf die relativ hohen Refraktometer- und Trockensubstanzwerte bemerkenswert ist.

Bei den abgehärteten Pflanzen verschieben sich die Verhältnisse bezüglich der Trockensubstanzwerte prinzipiell nicht viel, nur werden die P—Pflanzen von den K—Pflanzen überholt. Ferner kommt zum Ausdruck, daß die K+Pflanzen den geringsten Trockensubstanzwert, also den höchsten Wassergehalt aufweisen.

Die Refraktometerwerte gehen grundsätzlich den Trockensubstanzwerten parallel mit der Reihenfolge: N—, K—, P—, N+. Bei den Werten für Gefrierpunktserniedrigung fällt auf, daß die K+Pflanzen an zweite Stelle rücken mit 1,44⁰, die P—Pflanzen behalten den höchsten, die K—Pflanzen den relativ niedrigen Wert von 1,24⁰, der von den P+Pflanzen noch um 0,02⁰ unterschritten wird.

Aus den gleichen Holzkästen sind an denselben Tagen die zur Zuckerbestimmung dienenden Pflanzen entnommen worden. Jede Bestimmung ist in ihrem ganzen Analysengang vom Einwiegen der Substanz an doppelt ausgeführt. Die Resultate an Gerste und auch die nächsten Bestimmungen an Weizen zeigten eine so gute Übereinstimmung, daß in allen späteren Versuchen jeweils nur eine Bestimmung gemacht wurde. In der Zusammenstellung sind die Monosen und Biosen und ihre Summe auf 1 g Trockensubstanz, in der vierten Rubrik ihre Summe auf 1 g Wassergehalt berechnet. Die vierte Rubrik gibt demnach die jeweils in der Pflanze vorhandene Lösungskonzentration an, allerdings ohne Berücksichtigung des in den Zellmembranen und im Plasma festgelegten Anteils Wasser. Die Zucker sind der Einfachheit halber als Glukose angegeben.

Tabelle 18.

mg Monosen und Biosen bzw. ihre Summe in 1 g Trockensubstanz bzw. auf 1 g Wassergehalt berechnet, von abgehärteter und nicht abgehärteter Gerste.

Ernährung	Nicht abgehärtet				Abgehärtet			
	Monosen	Biosen	Summe auf 1 g Trocken-substanz	Gesamtzucker in 1 g Wassergehalt	Monosen	Biosen	Summe auf 1 g Trocken-substanz	Gesamtzucker in 1 g Wassergehalt
n	29,85	37,31	67,16	8,94	50,64	104,72	155,36	28,00
K +	27,38	57,60	84,98	11,15	45,65	129,9	175,55	29,97
K —	46,64	72,47	119,11	19,68	78,30	108,2	186,50	43,9
N +	30,60	44,91	75,51	10,01	51,88	102,05	153,93	27,09
N —	49,90	271,96	321,86	72,5	59,15	240,9	300,05	71,02
P +	31,52	46,45	77,97	10,16	59,17	109,9	169,07	30,718
P —	55,45	115,16	170,61	29,4	61,25	160,2	221,45	47,14

Der Einfluß des Abhärtens auf den Kohlenhydratstoffwechsel ist in der Abb. 14 übersichtlich dargestellt.

Bei den nicht abgehärteten Pflanzen sind die Zuckermengen, auf Trockensubstanz bezogen, stark verschieden: Weitaus den höchsten Gehalt haben die N—Pflanzen, etwas mehr als die Hälfte trifft auf die P—, etwas mehr als $^1/_3$ davon enthalten die K—Pflanzen. Die Zuckerwerte der übrigen Reihen liegen nahe beieinander mit rund $^2/_3$ der K—Pflanzen und $^1/_4$ der N—Pflanzen. Auf den Wassergehalt bezogen ändert sich die Reihenfolge prinzipiell nicht, aber der Abstand der Höchstwerte von den niederen wird noch weiter vergrößert.

Bei den abgehärteten Pflanzen bleibt auf Trockensubstanz und Wassergehalt bezogen die Reihenfolge wohl bestehen; die Unterschiede werden aber bedeutend kleiner; der höchste Wert beträgt nur noch knapp das Doppelte des niedrigsten. Auf den Wassergehalt bezogen ver-

größert sich der Abstand zwischen dem höchsten und niedrigsten Wert auf etwas mehr als das Zweieinhalbfache.

Bei den nicht abgehärteten Pflanzen stimmen die Zuckergehalte nicht mit den Werten für Gefrierpunktserniedrigung überein; eine leidliche Übereinstimmung wenigstens in ihrer Reihenfolge ergibt sich mit den Trockengewichtsmengen. Bei den abgehärteten Pflanzen besteht

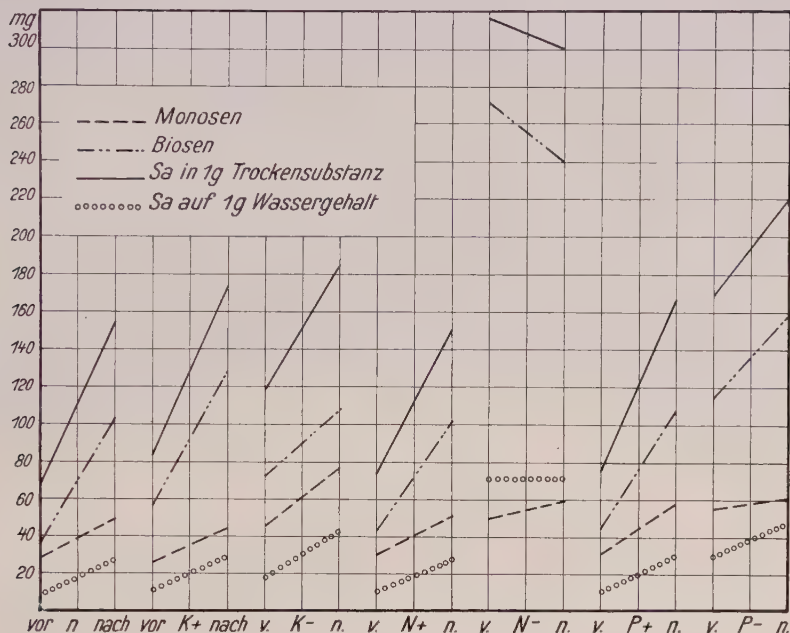


Abb. 14.
Gerste: Zucker vor und nach dem Abhärten auf 1 g Trockensubstanz bzw. 1 g Wassergehalt berechnet.

ebenfalls keine Beziehung zwischen Zuckergehalt und Gefrierpunktserniedrigung. Auch zwischen dem Trockensubstanzgehalt der ganzen Pflanze und des Preßsaftes einerseits und dem Zuckergehalt, ob auf Trockengewicht oder Wassergehalt bezogen, andererseits fehlt eine durchgehende Übereinstimmung.

Was das Verhältnis der Monosen zu den Biosen betrifft, so läßt sich feststellen, daß die Monosen den Biosen mengenmäßig stets unterlegen sind; sie betragen bei den nicht abgehärteten N—Pflanzen nur $1/5$ der Biosen. Unter dem Einfluß des Abhärtens ist die Zunahme der Biosen im allgemeinen rascher, als die der Monosen. Bei den N—Pflanzen überrascht die Abnahme der Biosen, während die Monosen noch eine Zunahme zu verzeichnen haben.

2. Weizen.

Dieselben Bestimmungen wie mit Gerste sind mit Weizen ausgeführt worden. Die Aussaat des Weizens erfolgte Ende August, die Anzucht fand in Holzkästen, die in der Vegetationshalle standen, statt. Die Abhärtung des einen Teils der Pflanzen wurde in einem auf +2 bis +3° gekühlten Gewächshause vorgenommen, während die nicht abgehärteten Pflanzen in der Zelle nebenan bei der Temperatur der Außenluft von durchschnittlich 12° bis 18° standen, wozu allerdings zu bemerken ist, daß in der Nacht vom 21. zum 22. 10. die Temperatur bis auf +6° sank. Die Verarbeitung des Versuchsmaterials wurde am 22. und 23. 10. vorgenommen. Die Resultate sind in den nächsten Tabellen zusammengestellt.

Tabelle 19.

Weizen, nicht abgehärtet; Trockengewicht in % des Frischgewichts: Refraktometerwerte und Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes.

Ernährung	Frisch	Trocken	Trockengewicht in % des Frischgewichts	Refraktometerwerte bei 22°	Gefrierpunktserniedrigung
n	20,48	2,50	12,21	11,70	1,01
K +	22,85	2,76	12,08	11,60	1,02
K —	17,61	2,63	14,94	13,6	0,86
N +	17,33	2,26	13,04	12,2	1,06
N —	4,41	0,70	15,87	13,6	1,06
P +	17,64	2,17	12,30	10,6	0,92
P —	12,41	2,27	18,29	15,90	1,14

Tabelle 20.

Weizen, abgehärtet: Trockengewicht in % des Frischgewichts, Refraktometerwerte und Gefrierpunktserniedrigung des Preßsaftes.

Ernährung	Frischgewicht in g	Trockengewicht in g	Trockengewicht in % des Frischgewichts	Refraktometerwerte bei 22°	Gefrierpunktserniedrigung
n	27,96	4,62	16,52	15,1	1,24
K +	30,67	4,83	15,75	13,7	1,26
K —	24,72	4,52	18,28	15,8	1,16
N +	24,97	4,20	16,82	15,0	1,26
N —	6,155	1,24	20,15	15,8	1,43
P +	33,415	5,00	14,96	12,7	1,12
P —	13,02	2,88	22,12	19,8	1,48

In Abb. 15 sind diese Verhältnisse graphisch dargestellt.

Die Werte für den Trockensubstanzgehalt der ganzen Pflanze und des Preßsaftes und für die Gefrierpunktserniedrigung zeigen insofern Übereinstimmung, als sie von allen Reihen bei den P—Pflanzen sowohl der abgehärteten als der nicht abgehärteten Pflanzengruppe am höchsten sind. Trockensubstanzgehalt und Refraktometerwert der N — und K — Pflanzen folgen in beiden Gruppen in derselben Reihenfolge, dagegen fehlt jede Beziehung dieser Werte zu denen der Gefrierpunktserniedrigung, die bei den nicht abgehärteten Pflanzen bei Kalimangel am geringsten ist und bei den abgehärteten Pflanzen dem geringsten Wert von 1,12° der P+Pflanzen am nächsten steht. Bemerkenswert ist, daß die P—Pflan-

zen in beiden Reihen den niedrigsten Refraktometerwert aufweisen. Sehen wir von den K-Pflanzen ab, dann ergibt sich bei den nicht abgehärteten Pflanzen für die Refraktometerwerte und die Gefrierpunktserniedrigung die nämliche Reihenfolge, dagegen besteht bei den abgehärteten Pflanzen diese Beziehung nicht mehr. Hervorzuheben sind bei den abgehärteten Pflanzen die hohen Werte für Trockensubstanzgehalt der ganzen Pflanze

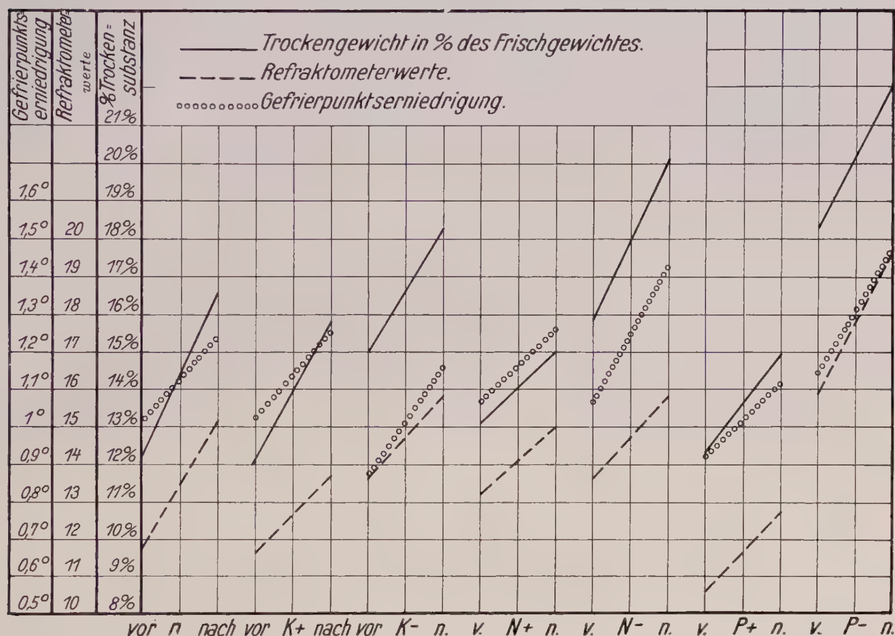


Abb. 15.
Weizen: Trockengewicht in Prozent des Frischgewichtes, Refraktometerwert und Gefrierpunktserniedrigung vor und nach dem Abhärten.

und des Preßsaftes und für die Gefrierpunktserniedrigung der P— und der N—Pflanzen einerseits und der relativ hohe Wert der erstgenannten Konstanten gegenüber dem niedrigen für die Gefrierpunktserniedrigung der K—Pflanzen andererseits.

Die folgende Übersicht enthält den Zuckergehalt des gleichen Weizens, wie er zu den vorhergehenden Bestimmungen benutzt wurde. Die dritte Spalte gibt die Summe der Monosen und Biosen auf 1 g Trockensubstanz, die vierte die Summe auf 1 g Wassergehalt berechnet, an. Die Dynamik der Kohlenhydrate der verschieden ernährten Pflanzen unter dem Einfluß des Abhärtens ist in Abb. 16 graphisch dargestellt.

Was die Zuckerwerte im einzelnen und ihre Zunahme unter dem Einfluß des Abhärtens betrifft, so finden wir bei den nicht abgehärteten Pflanzen, das Trockengewicht als Bezugsgröße genommen, den höchsten Wert bei den N—Pflanzen, dann folgt die K—Reihe; die Werte der P—,

Tabelle 21.

mg Monosen und Biosen bzw. ihre Summe in 1 g Trockensubstanz bzw. auf 1 g Wassergehalt berechnet von abgehärteten und nicht abgehärteten Pflanzen.

Ernährung	Nicht abgehärtet				Abgehärtet			
	Monosen	Biosen	Summe in 1 g Trocken-substanz	Summe auf 1 g Wasser-gehalt	Monosen	Biosen	Summe in 1 g Trocken-substanz	Summe auf 1 g Wasser-gehalt
n	37,21	45,47	82,68	11,49	65,32	72,25	137,57	27,23
K +	34,56	46,00	80,56	11,07	58,08	80,81	138,89	25,96
K —	43,26	63,53	106,79	18,75	55,88	84,48	140,36	31,41
N +	35,33	52,32	87,65	13,14	52,54	89,24	141,78	28,67
N —	49,04	158,9	207,94	39,23	70,48	176,6	247,08	62,38
P +	32,85	44,20	77,05	10,81	60,72	68,48	129,20	22,73
P —	62,26	20,00	82,26	18,42	79,00	25,79	104,79	29,76

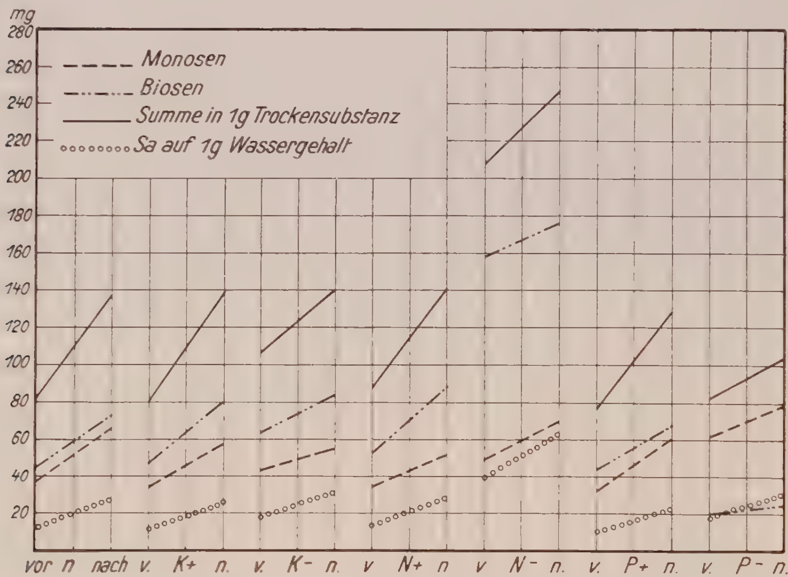


Abb. 16.

Weizen: Zucker vor und nach dem Abhärten auf 1 g Trockensubstanz bzw. Wassergehalt berechnet.

der normal ernährten und Überschußpflanzen liegen in derselben Größenordnung. Anders wird das Verhältnis, wenn auf den Wassergehalt bezogen wird: die N— Pflanzen behalten die Spitze, es folgen die K — und P — Pflanzen mit den ungefähr gleichen Werten 18,75 und 18,42, während die Werte der übrigen Reihen bei 11,0 liegen. Bei den abgehärteten Pflanzen, und zwar auf Trockengewicht bezogen ist der Zuckergehalt, abgesehen von der N— Reihe mit wieder dem höchsten Wert, ungefähr

gleich hoch. Bemerkenswerterweise zeigt die P—Reihe den niedrigsten Gehalt. Auf den Wassergehalt bezogen, behalten die N—Pflanzen den ersten Platz, die Werte für die übrigen Reihen liegen nahe beieinander; die P+Pflanzen enthalten stets die geringste Zuckermenge.

Die Zunahme der Monosen und Biosen durch die Abhärtung geht ungefähr in gleichem Maße vor sich. Auffallend wenig Biosen enthalten die P—Pflanzen beider Gruppen.

3. Roggen.

Der Roggen wurde Anfang Dezember 31 in Holzkästen ausgesät. Bis nach dem Auflauf standen die Pflanzen in einem geheizten Gewächshause bei ca. 15°. Dann wurden sie in die ungeheizte Vegetationshalle gebracht, wo die Temperatur der Außenluft herrschte. Aus besonderen Gründen konnte die vorgesehene künstliche Abhärtung bei +1° bis +2° nur während 4 Tagen durchgeführt werden. Früher ist schon erwähnt, daß die Ernährungsunterschiede nicht sehr ausgeprägt waren. Die Verarbeitung des Pflanzenmaterials wurde am 1. 2. vorgenommen.

Von einer Untersuchung nicht abgehärteter Pflanzen haben wir abgesehen, da zu diesem Zwecke die Anzucht in einem geheizten Gewächshaus hätte erfolgen müssen und unter diesen Umständen eine unnatürliche Entwicklung der Pflanzen die Folge gewesen wäre.

In der folgenden Tabelle sind die Resultate der nämlichen Bestimmungen angeführt, wie bei Gerste und Weizen. (Vergleiche dazu Abb. 17.)

Tabelle 22.

Roggen, abgehärtet; Trockengewicht in % des Frischgewichtes, Refraktometerwerte und Gefrierpunkterniedrigung des Preßsaftes.

Ernährung	Frischgewicht in g	Trockengewicht in g	Trockengewicht in % des Frischgewichts	Refraktometerwerte bei 22°	Gefrierpunktserniedrigung
n	8,46	1,23	14,54	11,0	0,94
K +	10,32	1,47	14,244	10,2	0,94
K —	25,76	3,50	13,58	11,8	0,89
N +	12,73	1,88	14,768	10,5	0,96
N —	13,38	2,37	17,713	13,7	1,08
P +	11,09	1,52	13,71	10,0	0,94
P —	12,95	2,19	16,91	12,7	1,16

Der Trockensubstanzgehalt der ganzen Pflanze und des Preßsaftes ist bei den N— und P—Pflanzen übereinstimmend am höchsten, dagegen ist die Gefrierpunktserniedrigung bei den P—Pflanzen höher als bei N—Pflanzen. Bemerkenswert ist auch bei Roggen, daß der nach der kryoskopischen Methode ermittelte osmotische Wert bei den K—Pflanzen am niedrigsten ist. Eine bestimmte Reihenfolge bezüglich der einzelnen Werte kann für die übrigen Ernährungsarten nicht angegeben werden, da die jeweiligen Unterschiede nur gering sind. Die nächste Tabelle gibt eine Übersicht über die in den nämlichen Pflanzen enthaltenen

Zuckermengen. Eine graphische Darstellung dieser Verhältnisse ist in **Abb. 18 wiedergegeben.**

Nach der Tabelle besitzen die N— und P— Pflanzen, ob auf Trockengewicht oder Wassergehalt bezogen, die größten Zuckermengen: sie enthalten durchschnittlich mehr als die doppelte Menge der übrigen Ernährungsarten. Auffallend ist, daß es ebenso wie bei Gerste in der Hauptsache nur die Biosen sind, die bei den N— und P—Pflanzen die **starke Überlegenheit ausmachen.**

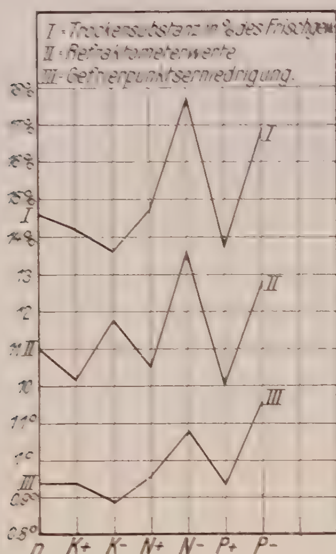


Abb. 17.
Roggen.

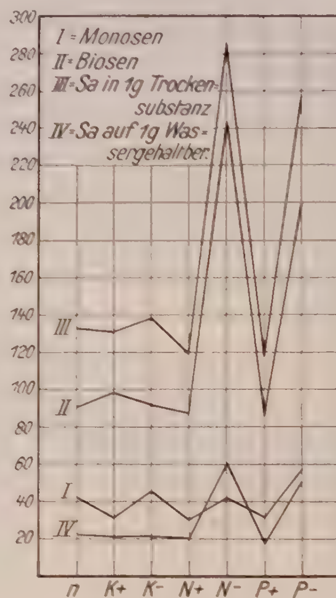


Abb. 18.
Kohlenhydratgehalt
von verschieden ernährtem Roggen.

Tabelle 23.
Roggen, abgehärtet. mg Zucker in 1 g Trockensubstanz bzw. auf 1 g Wassergehalt berechnet.

Ernährung	Monosen	Biosen	Summe auf Trockengewicht bez.	Summe in 1 g H_2O
n	42.10	91.27	133.37	22,69
K +	32.06	99.45	131,51	21,84
K —	46.85	92.24	139,09	21,87
N +	31.64	88.68	120,32	20,848
N —	42.53	243.7	286.32	61,614
P +	32.16	86.62	118.78	18,87
P —	58.03	200.8	258.83	52,68

4. Hafer.

Die Bestimmungen an Hafer konnten nicht im vorgesehenen Maße durchgeführt werden, da das Material der ersten, im November zu diesem Zwecke vorgenommenen Aus-

saat zu solchen Versuchen nicht einwandfrei erschien. Die Pflanzen, die zu den ausgeführten Trockensubstanz- und Zuckerbestimmungen verwendet wurden, sind Ende Januar in Töpfen ausgesät worden. Sie wurden am 29. 3. verarbeitet, nachdem sie zuerst in der Vegetationshalle und anschließend vom 16. 3. bis zum 29. 3. zur Abhärtung bei +3° zu stehen kamen. Es fehlen aus denselben Gründen wie bei Roggen die Bestimmungen an nicht abgehärteten Pflanzen und mangels genügenden Materials die Messungen in Preßsaft.

In der folgenden Übersicht sind enthalten der Trockensubstanzgehalt in Prozent des Frischgewichtes und die Zucker auf 1 g Trockengewicht und 1 g Wassergehalt bezogen. Die Verhältnisse, wie sie sich aus Tabelle 25 ergeben, sind in Abb. 19 graphisch dargestellt.

Tabelle 24.

Hafer: Trockensubstanz in % der Frischsubstanz.

Ernährung	Frischgewicht in g	Trockengewicht in g	Trockengewicht in % des Frischgewichts
n	3,96	0,5758	14,54
R +	2,51	0,4035	16,08
K —	2,58	0,4924	19,09
N +	2,76	0,4422	16,02
N —	1,455	0,2284	15,69
P +	2,49	0,3712	14,91
P —	1,44	0,3238	22,49

Tabelle 25.

mg Kohlenhydrate in 1 g Trockensubstanz bzw. auf 1 g Wassergehalt berechnet.

Ernährung	Monosen	Biosen	Gesamtzucker	Gesamtzucker auf 1 g Wassergehalt berechnet
	in 1 g Trockensubstanz			
n	33,41	67,55	100,96	17,18
K +	40,50	119,76	160,26	30,70
K —	54,79	157,1	211,89	49,98
N +	44,20	76,35	120,55	23,00
N —	48,07	64,86	112,93	21,03
P +	43,67	76,98	120,65	21,14
P —	66,99	159,8	226,79	65,79

Den höchsten Trockensubstanzgehalt weisen die P—Pflanzen auf, ihnen folgen die K -Pflanzen; die Werte der übrigen Reihen liegen ziemlich nahe beieinander. Der Zuckergehalt ist ebenfalls bei den P—Pflanzen am höchsten, ihnen zunächst stehen wieder die K—Pflanzen, gleich ob Trockengewicht oder Wassergehalt als Bezugsgröße gewählt wird. Für die anderen Ernährungsformen kann bei den verhältnismäßig geringen Unterschieden keine bestimmte Reihenfolge angegeben werden.

B. Der mittels Grenzplasmolyse ermittelte osmotische Wert verschieden ernährter Getreidearten.

Den osmotischen Wert des Zellsaftes bzw. seine relative Höhe haben wir, wie oben schon gesagt, mittels der kryoskopischen Methode

im Preßsaft aus lebend zerriebenen jungen Pflanzen ermittelt. Zur Sicherung der Ergebnisse, die z. T. beträchtliche Unterschiede bei den verschieden ernährten Pflanzen aufwiesen, wurde der osmotische Wert auch bei Grenzplasmolyse mittels abgestufter Zuckerlösungen festgestellt. Zu diesem Zwecke fand die untere Epidermis aus der Mitte des zweitjüngsten Blattes Verwendung.

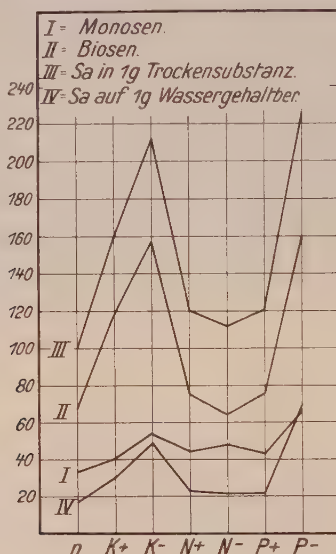


Abb. 19.
Hafer: Kohlenhydrate auf 1 g Trockensubstanz bzw. 1 g Wassergehalt berechnet.

Als Plasmolytikum diente Glukose- bzw. Rohrzuckerlösung. Die Ausgangslösung war 0,6 molar bzw. zehnprozentig und wurde wie folgt verdünnt. Unter Zugabe der angegebenen Kubikzentimeter Wasser wurde mit der Zuckerlösung in Meßkölbchen auf 50 ccm bzw. 25 ccm aufgefüllt. Da es sich bei unseren Versuchen nur um grundsätzliche Unterschiede, nicht um die genaue Höhe der Zellsaftkonzentration bei Grenzplasmolyse handelte, konnte die Ungenauigkeit, die durch die angegebene Verdünnungsweise bei der Abstufung entstand, in Kauf genommen werden.

Alle zur Untersuchung kommenden Pflanzen standen in der Vegetationshalle; sie waren also bis zu einem gewissen Grade abgehärtet und befanden sich im Entwicklungszustande der Bestockung.

Nach orientierenden Vorversuchen sind die Bestimmungen für eine Art gleichzeitig an einem Vormittag vorgenommen worden. Es bedeutet in den Tabellen: + = Plasmolyse nach 30 bis 45 Minuten, ± Grenzplasmolyse, 0 = keine Plasmolyse.

Aus den Tabellen geht die Sonderstellung der N-, P- und K-Mangelpflanzen bezüglich des osmotischen Wertes klar hervor. Den geringsten

osmotischen Wert weisen in allen drei Fällen die K-Mangelpflanzen, den höchsten die N- und P-Mangelpflanzen auf. Die unter dem Einfluß verschiedener Ernährung und nach dem Abhärten sich einstellenden osmotischen Werte können nur zum Teil durch den jeweiligen Gehalt an Zuckern erklärt werden. Während im allgemeinen bei den N— und P—Pflanzen hohe Zuckerwerte auf den Wassergehalt bezogen mit hohen osmotischen Werten parallel gehen, fehlt diese Beziehung bei den K—-Pflanzen, die bei relativ hohen Zuckerwerten stets den geringsten osmotischen Wert aufwiesen.

Tabelle 26.

Weizen: osmotischer Wert bei Grenzplasmolyse (30. März 1932).

Ausgangslösung 0,6 molare Glykoselösung verdünnt mit Wasser auf 50 ccm.

ccm Wasser	n	K +	K —	N +	N —	P +	P —
0,50					+		
0,75					±		+
1,00					0		±
2,00		+					0
2,25		±					
2,50		0		+			
2,75	+			±		+	
3,00	±			0		±	
3,25	0		+			0	
3,50			±				
3,75			0				

Tabelle 27.

Roggen: osmotischer Wert bei Grenzplasmolyse (1. April 1932).

ccm Wasser	n	K +	K —	N +	N —	P +	P —
0,25					±		
0,50					0		+
0,75							±
2,50		+					0
2,75		±					
3,00	+	0		+			
3,25	±			±		+	
3,50	0			0		±	
3,75						0	
4,00			+				
4,25			±				
4,50			0				

Tabelle 28.
Gerste: Osmotischer Wert bei Grenzplasmolyse (am 5. April).
Ausgangslösung: 10%ige Glukoselösung, verdünnt auf 25 ccm.

ccm Wasser	n	K +	K —	N +	N —	P +	P —
6,50					+		
7,00					±		+
7,25					0		±
7,50							0
7,75		+					
8,00		±		+			
8,25	+	0		±		+	
8,50	±			0		±	
8,75	0		+			0	
9,00			±				
9,25			0				
9,50							

C. Die Wasserstoffionenkonzentration des Preßsaftes verschieden ernährter Getreidepflanzen.

Wie schon im ersten Teil erwähnt wurde, haben bei der Bestimmung der Zellsaftreaktion Messungen der Wasserstoffionenkonzentration im Preßsaft nur bedingte Gültigkeit. Die einwandfreiere Indikatormethode, bei der die Zellsaftreaktion unmittelbar bestimmt wird, ist für Serienuntersuchungen zu langwierig, so daß die Anwendung dieser Methode hier nicht in Betracht gezogen werden konnte. Bei der normalerweise guten Pufferung des Zellsaftes wird aber auch die Ermittlung der pH-Zahl des Preßsaftes grundsätzliche Unterschiede erkennen lassen. Über die Pufferung selbst und die wirksamen Systeme bzw. ihre Veränderung bei verschiedener Mineralsalzernährung ist für Getreidepflanzen nichts bekannt. Wichtiger als die unter normalen Bedingungen herrschende C_H im Zellsaft, die unter den gegebenen Bedingungen nur wenig verschieden war, ist im Falle der Eisbildung die Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration, die natürlich weitgehend von der Art des vorhandenen Puffersystems abhängig ist. Einen Einblick in diese beim Gefrieren sich abspielenden Vorgänge könnte nur die direkte mikroskopische Beobachtung auf dem Kälteobjekttisch oder unter dem Gefriermikroskop gewähren, wobei der Zellsaft vital mit geeigneten Indikatoren zu färben wäre. Ein Gefrieren des Preßsaftes und die nachträgliche Feststellung einer Veränderung der Wasserstoffionenkonzentration wird ohne Beweis für den im Zellsaft sich abspielenden Vorgang sein.

Die unten mitgeteilten pH-Zahlen des Preßsaftes sind für die einzelnen Getreidearten nicht sehr verschieden; die Unterschiede machen

im Höchstfalle 0,4 aus. Wie weit sie von der Reaktion des Substrates abhängen, bliebe noch zu untersuchen. Keyßener[1]) und Virtanen[2]) haben im Preßsaft aus Wurzeln, denen dasselbe Substrat bei abgestufter Wasserstoffionenkonzentration geboten war, beträchtliche und gleichsinnige Reaktionsveränderungen feststellen können. Dagegen scheinen aber die Reaktionsveränderungen im Preßsaft oberirdischer Teile bei Anzucht in verschieden sauren Böden kaum mehr meßbar[3]). Wie aus der folgenden Tabelle zu entnehmen ist, sind wir zu ähnlichen Ergebnissen bei Tabak gelangt, der in natürlich saurem Boden, dem abgestufte Mengen Kalk beigemischt waren, gewachsen war.

Tabelle 29.
pH-Werte des Preßsaftes von Tabakpflanzen, die in verschieden saurem Boden gewachsen waren.

pH des Bodens	pH des Preßsaftes von Tabakblättern mittleren Alters im Mittel
4,23	5,51
6,00	5,72
6,93	5,87
7,01	5,87

Dabei sind die Schwankungen, die bei Verwendung einmal noch sehr junger Blätter und andererseits ausgewachsener Blätter in Komposterde herangezogener Pflanzen mit den Werten 6,01 bzw. 5,65 ungefähr ebenso groß, wie sie sich für gleichwertige Blätter bei Anzucht der Pflanzen in Böden verschiedener Azidität ergeben haben.

Tabelle 30.
pH im Preßsaft verschieden ernährter Getreidepflanzen.

Ernährung	Roggen 1. Februar 1932	Gerste 22. Oktober 1931	Hafer 11. Januar 1932
n	6,20	6,14	6,61
K +	6,14	6,09	6,75
K —	6,26	6,11	6,76
N +	6,13	6,29	6,81
N —	6,10	6,10	6,92
P +	6,13	6,05	6,59
P —	6,30	5,99	6,48

[1]) Keyßener, E.: Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration der Nährlösung auf die Reaktion in der Pflanze. (Planta Bd. 12. 1931, 575.)

[2]) Virtanen, A.: Bemerkungen zu d. gleichnam. Arbeit v. E. Keyßner. (Planta Bd. 15. 1932, 645.)

[3]) Schaffnit, E. u. Meyer-Hermann: Der Einfluß der Bodenreaktion auf die Lebensweise von Pilzparasiten u. das Verhalten ihrer Wirtspflanzen. (Phytopath. Zeitschrift Bd 2. 1930, 99.)

Die extremen Werte sind bei Hafer in den P- und N-Mangelpflanzen vorhanden. Damit stimmt überein, daß auch bei Gerste die P—Pflanzen die stärkste Azidität aufweisen. Dagegen zeigen die N+Pflanzen den geringsten Säuregrad dieser Reihe. Im Gegensatz zu Hafer und Gerste stehen die P—Pflanzen von Roggen, die von allen Reihen am wenigsten sauer reagieren. Die Reihenfolge der im Preßsaft von Roggen gefundenen Azidität entspricht in ihren Extremen der in Kartoffel- und Tomatenpreßsaft festgestellten.

Soweit aus diesen Resultaten, in denen der Einfluß des Blattalters nicht berücksichtigt wurde, ersichtlich ist, tritt bei den verschiedenen Getreidearten unter dem Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung eine mit der Getreideart wechselnde Reaktionsänderung des Zellsaftes ein. Inwieweit diese Veränderungen vom Blattalter und von der Bodenreaktion abhängig sind, bliebe weiterhin zu erforschen. Nach den Ergebnissen der experimentellen Kühlversuche kann bei dem extrem unterschiedlichen Verhalten der P— und N—Pflanzen von einer Beziehung von Frostresistenz und aktueller Azidität im Zellsaft nicht gesprochen werden.

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Die vorliegenden Untersuchungen haben bewiesen, daß unter dem Einfluß verschiedener Mineralsalzernährung sowohl die untersuchten kälteempfindlichen Tomaten und Kartoffeln wie die als mehr oder weniger kälteresistent bekannten Getreidearten ein unterschiedliches Verhalten gegenüber der Einwirkung niederer Temperatur zeigen. Eine Erklärung für dieses unterschiedliche Verhalten kann jedoch nicht mit der Annahme einer einfachen mengenmäßigen Verschiebung bestimmter Zellinhaltsstoffe oder von physikalisch-chemischen Konstanten des Zellsaftes gegeben werden, sondern ist in einer spezifischen Veränderung der Plasmastoffe und des Ablaufs lebenswichtiger Stoffwechselprozesse zu suchen.

Wohl mag es, wie in der vorangegangenen 2. Mitteilung über Kältewirkungen auf die pflanzliche Zelle zum Ausdruck gebracht wurde, Fälle geben, in denen für den Kältetod der Pflanzen das physikalische Prinzip von entscheidendem Einfluß sein muß; z. B. bei plötzlich erfolgendem extrem tiefem Temperaturabfall. In diesem Fall wird eine voraufgegangene und bei entsprechender Temperatur erfolgte Zuckeranhäufung eine Vermehrung hydrophiler Kolloide oder eine Verminderung des Wassergehaltes der Gewebe u. a. rein physikalisch eine gewisse Schutzwirkung ausüben können, indem eine irreversible Entquellung oder eine möglicherweise erfolgende mechanische Schädigung des Plasmas infolge Eisbildung verzögert oder auch verhütet wird. In der Regel dürfte der Kältetod jedoch nicht plötzlich erfolgen, sondern es werden schon unter dem Einfluß von das Leben der Pflanze nicht unmittelbar bedrohenden

Temperatursenkungen Störungen des normalen Stoffwechselverlaufes eintreten, die je nach der Dauer der Kältewirkung früher oder später zu einer Erkrankung der Pflanze führen. Welche von den sicher zahlreichen Prozessen es jedoch im einzelnen sind, die unter dem Temperatureinfluß ihre lebenswichtigen Funktionen nicht mehr erfüllen können, entzieht sich noch unserer genauen Kenntnis. Die Kompliziertheit des Problems wird klar, wenn wir z. B. nur den Atmungsstoffwechsel, der unter diesen Bedingungen wohl die wichtigste Rolle spielt, zu analysieren versuchen. So kann einmal infolge gehemmter Assimilation Mangel an Atmungsmaterial eintreten; dann ist an eine verlangsamte oder gehemmte Stoffbewegung innerhalb der Zelle zu denken; ferner können sich giftig wirkende Stoffe, die normalerweise oxydiert, wieder entgiftet und zur Synthese verwendet werden, anhäufen, z. B. Säuren oder Ammoniak bei Veratmung von Zucker bzw. von Aminosäuren, und schließlich ist eine Veränderung der Struktur des Plasmas, an dessen Oberfläche sich im Sinne Warburgs die Verbrennung des adsorbierten Atmungsmaterials abspielt, in Erwägung zu ziehen.

Bei dem derzeitigen Stande unserer Kenntnis vom Plasma selbst und der Vielheit der sich in diesem abspielenden Stoffwechselprozesse kann eine Kausalanalyse der unter dem Einfluß niederer Temperaturen ins Pathologische führenden Vorgänge zunächst nicht gegeben werden. Erst durch die chemische Erforschung der Plasmastoffe, die Untersuchung des gesamten Enzymstoffwechsels der Pflanze und die vollständige Erfassung der mit dem Absinken der Temperatur erfolgenden Stoffwechseländerungen, mit der durch die vorangegangenen Arbeiten hier nach Maßgabe der vorhandenen Arbeitsmittel begonnen worden ist, wird mehr Klarheit zu gewinnen sein.

Die Versuche mit Kartoffel und Tomate haben ergeben, daß einmal die Pflanzen aller Ernährungsreihen mit der Abhärtung die Erfriertemperatur erniedrigen, dann, daß die N- und P-Mangelpflanzen und die Kaliüberschußpflanzen sowohl abgehärtet als nicht abgehärtet bei tieferer Temperatur erfrieren, als die unter gleichen Bedingungen gehaltenen Pflanzen der übrigen Ernährungsformen. Wenn die Annahme zu Recht besteht, daß bei Kartoffel und Tomate mit dem Gefrieren praktisch auch das Erfrieren verbunden ist, kann die mit dem Abhärten bzw. bei Kaliüberschuß- und Stickstoff- und Phosphormangelernährung erfolgende Senkung der Erfriertemperatur mit solchen Veränderungen in der Zelle erklärt werden, die die Gefriertemperatur rein physikalisch erniedrigen. Dabei wäre in erster Linie der osmotische Wert zu berücksichtigen. Mit einer solchen Annahme stimmt überein, daß sowohl die abgehärteten Pflanzen als auch die Stickstoff- und Phosphormangel- sowie die Kaliüberschußpflanzen höhere osmotische Werte aufweisen als die nicht abgehärteten Pflanzen bzw. die der n-, K —, N + und P + Reihen. Andererseits

liegt die Erfriertemperatur der K—Pflanzen, deren Zellsaft stets den niedrigsten osmotischen Wert aufweist, von allen Reihen am höchsten.

Zu einer Erhöhung des osmotischen Wertes kann sowohl die Verringerung des Wassergehaltes als auch die Anhäufung löslicher Kohlenhydrate beigetragen haben. Eine direkte Beziehung zwischen osmotischem Wert und Zuckermenge bzw. Wassergehalt besteht aber im Hinblick auf die K— und K+ Pflanzen nicht, da bei fehlender Kaligabe der Wassergehalt geringer und die Zuckeranhäufung größer ist als bei den Kaliüberschußpflanzen und andererseits letztere stets einen höheren osmotischen Wert aufweisen als die K- Pflanzen. Auch der Trockensubstanzgehalt des Zellsaftes hat sich geändert, ohne weder Beziehungen zum osmotischen Wert noch zur Erfriertemperatur erkennen zu lassen. Die mit dem Absinken der Temperatur veränderte Wasserstoffionenkonzentration des Kartoffelpreßsaftes spricht deutlich für Änderungen innerhalb der Stickstoffverbindungen, denen wohl in erster Linie die Reaktionsverschiebung zuzuschreiben ist.

Anderer Natur als die durch plötzliche und zu weitgehende Wasserentziehung zweifellos erfolgenden und leicht zu einem akuten Frosttod führenden Schädigungen sind die Krankheitserscheinungen, die an Kartoffel und Tomate bei über 0° gelegenen Temperaturen auftreten. Sie machen sich für das Auge zuerst als Störungen im Wasserhaushalt bemerkbar, in Welke- und Vertrocknungserscheinungen, die in erster Linie im Blattrand, in den Interkostalfeldern, der Blattspitze und an den ältesten Blättern auftreten und sich durch Hemmung der Wasserabgabe bzw. Verbesserung der Wasseraufnahme bis zu einem gewissen Grade mindern lassen. Besonders bemerkbar machen sich die Welkeerscheinungen bei Mangel- und Überschußernährung mit Kali, dessen günstiger Einfluß auf den Wasserhaushalt der Pflanzen schon erwähnt ist, indem die schlecht mit Kali versorgten Pflanzen zuerst und am stärksten geschädigt werden, während unter denselben Bedingungen die Kaliüberschußpflanzen stets am spätesten und im geringsten Maße Schädigungsmerkmale zeigen. Stickstoff- und Phosphormangel bzw. Überschuß hat unter unseren Versuchsbedingungen keine bestimmte Wirkung erkennen lassen.

Fragen wir nach den Ursachen dieser Krankheitserscheinungen, dann ergeben sich in erster Linie Störungen derjenigen Funktionen, die die Wasserökonomie beeinflussen. Da die Transpiration mit sinkender Temperatur erniedrigt ist, müssen wir annehmen, daß die aktive Tätigkeit der Wurzelzellen infolge irgendwie gearteter Stoffwechseländerungen oder Stoffumlagerungen beeinträchtigt wird. Erfahrungsgemäß scheinen ganz allgemein die Wurzeln kälteempfindlicher zu sein als die oberirdischen Teile und bei der gleichen Temperatur eher an Stoffwechselstörungen zu erkranken. Über die auch abgesehen von den den Wassergehalt beeinflussenden, bei länger dauernder Wirkung niederer Temperatur sich be-

merkbar machenden Stoffwechselstörungen unserer Versuchspflanzen können vorerst nur Vermutungen ausgesprochen werden. Versuchen wir eine Erklärung für die günstige Rolle des Kalis, so kann rein physikalisch durch den erhöht gefundenen osmotischen Wert die Wasserbewegung in die Wurzeln beschleunigt und andererseits die Wasserabgabe der oberirdischen Teile verlangsamt werden. Die rein physikalische Seite der Wasseraufnahme, -bewegung und -abgabe dürfte aber kaum zu einer befriedigenden Erklärung für die Leistung des Kalis führen; wir müssen außerdem eine spezifische Beeinflussung des Stoffwechsels annehmen, deren Kenntnis allerdings noch aussteht. Nicht ohne Interesse ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß unter der Einwirkung gewisser Pilze und Bakterien Stoffe in der Pflanze erzeugt werden können, die als Gifte, völlig unabhängig von Wasserhaushalt bzw. Wasserversorgung der Pflanzen, Welkeerscheinungen hervorrufen können. Der gleiche Effekt kann ausgelöst werden durch die Einführung gewisser chemischer Substanzen, die den durch die Einwirkung von Parasiten erzeugten Toxinen nahestehen. Neuerdings konnten diese Toxine in chemischer Hinsicht als Amine charakterisiert werden[1]).

Für die untersuchten Getreidearten treten unter dem Einfluß des Abhärtens ähnliche Stoffwechseländerungen auf, wie bei Kartoffel und Tomate. Ganz allgemein werden die löslichen Kohlenhydrate vermehrt, der Wassergehalt wird verringert, der osmotische Wert und der Trockensubstanzgehalt des Preßsaftes wird erhöht. Wie die Kälteversuche mit abgehärtetem und nicht abgehärtetem Weizen zeigen, wird gleichzeitig durch den Abhärtungsprozeß die Frostresistenz erhöht.

Die Veränderung der Mineralsalzernährung gibt sich einheitlich dahin zu erkennen, daß die höchsten Zuckergehalte und osmotischen Werte bei Mangel an Stickstoff und Phosphor erreicht werden. Ebenso ist bei solcherart ernährten Pflanzen der Trockensubstanzgehalt der ganzen Pflanze und des Preßsaftes am höchsten. Eine Ausnahme machen nur die N—Pflanzen des Hafers, bei denen aber, wie eingangs bemerkt, Stickstoffmangel nicht sehr deutlich hervorgetreten war. Eine Sonderstellung nehmen auch bei den Getreidearten die Kalimangelpflanzen ein: Sie weisen gegenüber den normal ernährten und Kaliüberschußpflanzen bei relativ hohen Zucker- und Trockensubstanzwerten stets einen verhältnismäßig niedrigen osmotischen Wert auf.

Unter den Bedingungen des Kältebades lassen die verschieden ernährten Getreidearten auffällige Unterschiede in ihrer Kälteresistenz erkennen, und zwar ist die Reihenfolge ihrer Resistenz eine andere, wenn ein länger dauerndes Kältebad bei weniger tiefer Temperatur einwirkt, als wenn die Pflanzen tieferen Temperaturen kürzere Zeit ausgesetzt werden.

---

[1]) Vergl. Schaffnit u. Lüdtke: Über die Bildung von Toxinen durch verschiedene Pflanzenparasiten. (Berichte der Dtsch. Bot. Gesellsch. Bd. L. Heft 9. 1932.)

Im letzteren Falle, also unter den Bedingungen der bisher allgemein angewendeten Bestimmungen der Frosthärte des Getreides, werden die N— und P—Pflanzen stets am stärksten geschädigt. Wenn nun im Vergleich zu den Pflanzen der übrigen Ernährungsformen gerade bei Stickstoff- und Phosphormangel die höchsten Zuckergehalte, die höchsten Trockensubstanzwerte der ganzen Pflanze und des Preßsaftes und die höchsten osmotischen Werte festgestellt worden sind, und an diesen gemessen, unter den Bedingungen des Kältebades die bei N— und P—Pflanzen gebildeten Eismengen relativ kleiner sein müssen als bei denen der übrigen Ernährungsreihen, so ist erwiesen, daß in diesen Fällen zwischen den chemisch-physikalischen Konstanten des Zellsaftes bzw. der in Abhängigkeit von diesen jeweils gebildeten Eismenge und der Kälteresistenz keine Korrelationen bestehen. Die geringere Kälteresistenz kann man sich im vorliegenden Fall, also bei plötzlichem und extrem tiefem Temperaturfall, soweit dafür nicht im Protoplasma vor sich gehende Stoffumlagerungen chemischer Art in Betracht kommen, nur so erklären, daß sich mit der verschiedenen Ernährung auch die stoffliche Zusammensetzung des Protoplasmas in qualitativer und quantitativer Hinsicht geändert hat. Wie schon früher gezeigt werden konnte, ist der Eiweißgehalt von N- und P-Mangelpflanzen relativ gering. Ist aber in einem so kompliziert zusammengesetzten System, wie es das Protoplasma darstellt, und das in physikalischer Hinsicht Eigenschaften einer Emulsion und Dispersion zeigt, nur eine wesentliche Komponente mengenmäßig verschoben, so kann das ganze System gegenüber physikalischen Einflüssen, z. B. im fraglichen Falle gegenüber starkem Wasserentzug und mechanischem Druck infolge Eisbildung ein ganz anderes Verhalten zeigen. Weiterhin kann die Eigenart der Plasmakolloide selbst durch P- und N-Mangelernährung derart beeinflußt worden sein, daß sie gegen Entquellung empfindlicher sind und bei einem geringeren Wasserentzug ein irreversibles Stadium erreichen als die Kolloide, die bei ausreichender N- und P-Ernährung gebildet werden.

Im zweiten Fall unserer Kühlversuche und -ergebnisse bei weniger tiefen Temperaturen und längerer Einwirkungszeit müssen pathologische Stoffwechseländerungen als Ursache für die Schädigungen verantwortlich gemacht werden; denn die Verhältnisse liegen hier umgekehrt wie in den ersten Versuchsreihen mit kurzfristiger Kühlung bei tiefer Temperatur, insofern, als sich hier die N- und P-Mangelpflanzen als am kälteresistentesten erwiesen haben. Bei den gewählten Temperaturen von —7° müssen physikalische und mechanische Einwirkungen infolge starker Eisbildung als unmittelbare Schädigungsursache schon deshalb ausgeschlossen werden, weil das Absterben ganz allmählich und erst nach längerer Einwirkungszeit erfolgt.

Bekanntlich ist der Ablauf der Stoffwechselvorgänge eine Funktion

von Zeit und Temperatur und führt bei ungünstiger Gestaltung der genannten Faktoren zu Störungen des biochemischen Gleichgewichtes. Ob nun Anhäufung intermediär auftretender schädlicher Stoffe, die als Ferment- oder Zellgifte wirken können, oder mangelnder Nachschub lebensnotwendiger Stoffe die näheren Ursachen des früher oder später erfolgenden Absterbens der Versuchspflanzen darstellen, bleibt vorerst ungeklärt. Unter letzterem Gesichtspunkt gewinnt der mit dem Absinken der Temperatur einsetzende Abbau hochpolymerer Kohlenhydrate und Eiweißverbindungen, abgesehen von der Funktion der einfacheren Spaltprodukte als Schutz- oder osmotisch wirksame Stoffe, biochemisch die weitere Bedeutung, daß dadurch erstens bei der sicher stark verlangsamten Stoffbewegung innerhalb der Zellen ein genügender Vorrat an unmittelbar verbrennbarem Atmungsmaterial geschaffen wird, und zweitens, daß die Zelle instand gesetzt wird, den Ausfall an der Gesamtleistung des Plasmas, der sich aus der infolge Entquellung resultierenden Verringerung der wirksamen Fermentoberfläche ergibt, dadurch auszugleichen, daß das Adsorptionsmaterial entsprechend vermehrt wird.
Abgesehen von den infolge Temperaturwirkung als solcher eintretenden pathologischen Stoffwechselerscheinungen ergeben sich unter den gewählten Versuchsbedingungen physiologische Störungen auch dadurch, daß einer steten Wasserabgabe kein entsprechender Nachschub aus dem gefrorenen Boden gegenübersteht. Die Höhe des in der Zeiteinheit erreichten Wasserverlustes und die Größe des ohne Schaden ertragbaren Defizits ist nun bekanntlich selbst wieder von dem Ernährungszustand der Zelle abhängig.

Wie aus den Versuchsprotokollen ersichtlich ist, führt Fehlen von Kali bei hinreichenden Stickstoff- und Phosphorgaben zu den stärksten Schädigungen, reichliche Kaligaben zu erhöhter Widerstandsfähigkeit. Damit steht auch die hohe Resistenz der Stickstoff- und Phosphormangelpflanzen, die ja ebensogut als Kaliüberschußpflanzen aufgefaßt werden können, gut im Einklang.

Als gemeinsames Merkmal der unter letzteren Bedingungen resistenten Pflanzen ist der relativ hohe osmotische Wert des Zellsaftes hervorzuheben. Die Höhe des osmotischen Wertes einer Pflanze bestimmt nun bekanntlich nicht allein die Wasseraufnahmefähigkeit und die Saugkraft der Wurzeln, sondern beeinflußt auch in hohem Maße die Wasserabgabe, soweit sie von dem Quellungszustand des Plasmas abhängig ist, indem bei höherem osmotischen Wert die Quellungskraft, d. h. die Kraft Wasser anzuziehen und festzuhalten, eine größere ist als bei niedrigerem osmotischen Wert. Für die Bedeutung des Faktors Wasser als eine mögliche Ursache der auftretenden Krankheitserscheinungen spricht die Tatsache, daß das Vorkommen von Vertrocknungsschäden schon bei normaler Temperatur in hohem Maße durch die Kaliernährung beeinflußt wird.

Die experimentellen Ergebnisse lassen aber auch den Begriff der Kälteresistenz in einem besonderen Licht erscheinen, nachdem nachgewiesen werden konnte, daß dieselbe Pflanze bei derselben Ernährungsform verschiedene Resistenz aufweist, wenn sie entweder einem länger dauernden Kältebad bei weniger tiefer Temperatur oder wenn sie einer tieferen Temperatureinwirkung kürzere Zeit ausgesetzt wird. Am auffallendsten ist das Verhalten der N- und P-Mangelpflanzen, die einerseits unter der ersteren Bedingung am wenigsten resistent sind, im zweiten Falle aber alle anderen ernährten Pflanzen an Widerstandsfähigkeit übertreffen. In ähnlicher Weise wirken sich verschieden hohe Kaligaben aus: bei tieferer Temperatur und kürzerer Dauer der Kälteeinwirkung ist kein deutlicher Unterschied zu konstatieren, dagegen erweisen sich im längerdauernden Kältebad bei weniger tiefer Temperatur die Kalimangelpflanzen als am wenigsten resistent.

Nach diesen Ausführungen kann die Kälteresistenz einer Pflanze bei der zweifellos vorhandenen Vielheit der Stoffwechselprozesse, deren Schädigung über Leben und Tod der Pflanze entscheiden, kaum an Hand eines Faktors beurteilt werden. Maßgebend für die Kälteresistenz derselben Pflanzen und noch mehr verschiedener Sorten ist, wie aus den vorliegenden Untersuchungen an verschieden ernährten Pflanzen hervorgeht, nicht allein der osmotische Wert oder die Wasserstoffionenkonzentration des Zellsaftes, auch nicht der Gehalt an Zucker oder Trockensubstanz oder an Stickstoffverbindungen bestimmter Art, sondern stets die Gesamtheit der Stoffwechselvorgänge. Nur in dem theoretisch wohl denkbaren Fall, daß bei völliger Gleichheit der stofflichen Zusammensetzung und Funktion des Plasmas eine Veränderung der genannten Faktoren nach der günstigen Richtung die Widerstandsfähigkeit gegen die direkte sowohl als die indirekte Kältewirkung erhöht, kann eine Bestimmung dieser Faktoren die experimentelle Prüfung im direkten Kühlversuch ersetzen. Diese Voraussetzungen dürften aber in der Praxis nur in sehr seltenen Fällen erfüllt sein. Der Wert dieser Faktoren als Kriterium für die Kälteresistenz ergibt sich aus unseren mitgeteilten Untersuchungen und geht auch aus der reichlichen und zum Teil widersprechenden Literatur über diesen Gegenstand hervor.

V. Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

1. Bei Kartoffel- und Tomatenpflanzen treten mit dem Absinken der Temperatur ähnliche Stoffwechseländerungen ein wie bei den winterannuellen Getreidepflanzen: der osmotische Wert des Zellsaftes wird erhöht und der Zucker- und Trockensubstanzgehalt des Zellsaftes und der ganzen Pflanze vermehrt. Umgekehrt nimmt der Wassergehalt ab.

Mit diesen Änderungen ist eine Erniedrigung der Erfriertemperatur verknüpft; sie beträgt bei diesen Pflanzen nur wenige Zehntel Grad.

2. Durch veränderte Mineralsalzernährung wird für alle untersuchten Pflanzen der osmotische Wert derart beeinflußt, daß er gegenüber normal ernährten Pflanzen bei Stickstoff- und Phosphormangel sowie Kaliüberschußdüngung erhöht, bei Kalimangel stets am niedrigsten ist. Stickstoff- und Phosphorüberschuß lassen keine deutliche Wirkung in dieser Beziehung erkennen.

3. Zucker- und Trockensubstanzgehalt sind durchweg am höchsten bei Stickstoff-, Phosphor- und Kalimangelpflanzen. Die Unterschiede innerhalb der übrigen Ernährungsformen sind nicht deutlich ausgeprägt.

4. Die Wasserstoffionenkonzentration des Preßsaftes wird bei den untersuchten Pflanzen durch verschiedene Ernährung nicht einheitlich verändert.

5. Im Kältebad zeigen die N—-, P—- und K+-Kartoffeln und -Tomaten gegenüber den anderen Ernährungsformen die niedrigste Erfriertemperatur.

Bei über 0° gelegenen Temperaturen erweisen sich die reichlich mit Kali versorgten Pflanzen als am resistentesten, während bei Kalimangel Stoffwechselstörungen am frühesten in Erscheinung treten.

6. Bei den Getreidearten führt verschiedene Mineralsalzernährung zu gleichsinnigen Veränderungen des osmotischen- und Refraktometerwertes des Preßsaftes, des Trockensubstanzgehaltes der oberirdischen Pflanzenteile und der Zuckermengen. Die osmotischen Werte liegen bei den N—- und P—-Pflanzen durchweg am höchsten. Ihnen zunächst stehen die K—Pflanzen, während die K—Pflanzen den niedrigsten osmotischen Wert aufweisen. Der Gehalt an Zucker, an Trockensubstanz der ganzen Pflanze und des Preßsaftes ist durchweg am höchsten bei Stickstoff-, Phosphor- und Kalimangel. Die übrigen Ernährungsformen lassen in dieser Hinsicht keine klaren Unterschiede erkennen.

7. Die Getreidearten weisen je nach der Ernährung eine verschiedene Widerstandsfähigkeit gegen niedere Temperaturen auf. Die relative Resistenz der verschieden ernährten Pflanzen verändert sich aber, wenn sie einem Kältebad entweder bei tieferer Temperatur und kürzerer Dauer oder bei weniger tiefer Temperatur und längerer Dauer ausgesetzt werden. Im ersteren Falle erweisen sich die N— und P—Pflanzen als am wenigsten resistent, im zweiten Falle sind sie ebenso wie die K—Pflanzen am widerstandsfähigsten. Unter letzteren Versuchsbedingungen sind die Kalimangelpflanzen am empfindlichsten und sterben frühzeitig ab.

Bei Kälteresistenzbestimmungen im künstlichen Kühlversuch ist deshalb dem Zeitfaktor Rechnung zu tragen, da sich unter dessen Einfluß wenigstens bei verschieden ernährtem Getreide die Verhältnisse bis zur Umkehr der Reihenfolge verschieben können.

Die Kälteresistenz kann kaum nach einem Kriterium beurteilt werden, es sind vielmehr stets die gesamten Stoffwechselprozesse einer

Pflanze für das Verhalten gegenüber niederen Temperaturen zu berücksichtigen.

8. In praktischer Hinsicht ist aus den vorliegenden Untersuchungen die Nutzanwendung zu ziehen, daß durch hinreichende Kalidüngung von Kartoffeln und Tomaten die schädliche Wirkung von Temperaturdepressionen bis zum 0-Punkt im Frühjahr gemildert (Transpirationsschäden) und die Erfriertemperatur erniedrigt werden kann; ferner daß das Wintergetreide gegen Kälteschäden, die durch Stoffwechselstörungen hervorgerufen werden und mit starkem Wasserverlust (gefrorener Boden — Fehlen einer Schneedecke — scharfe Winde) verbunden sind, durch gute, rechtzeitige Versorgung mit Kalisalzen in leicht aufnehmbarer Form ebenfalls weitgehend geschützt werden können.

Aus der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Berlin-Dahlem.

Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Kartoffel.

I. Versuche mit Viren aus der Mosaikgruppe.

Von

E. Köhler.

Mit 15 Textabbildungen.

Die Analyse der auf der Kartoffel vorkommenden Viruskrankheiten der Mosaikgruppe (einschließlich „Streak" und „Crinkle"), die, wie unzweifelhaft feststeht, an der Erscheinung des „Abbaus" maßgebend beteiligt sind, hat in der letzten Zeit sehr beachtliche Fortschritte gemacht. Diese sind nicht zuletzt dem Umstand zu verdanken gewesen, daß sich verschiedene andere Solanaceen, insbesondere der Tabak, als geeignete Indikatorpflanzen erwiesen haben, die eine wie es scheint einwandfreie Differenzierung und Bestimmung der vorkommenden Virusarten ermöglichen. Die Infektionstechnik wurde wesentlich vervollkommnet und liefert überraschend schnelle Ergebnisse. Als sehr bequeme Infektionsmethode hat sich das Einreibeverfahren erwiesen[1]). Hierbei werden die Blätter der zu infizierenden Pflanzen unter leichtem Druck mit einem Gaze- oder Wattebausch, der mit der virushaltigen Flüssigkeit getränkt ist, abgerieben. Wenn man gewisse Vorsichtsmaßnahmen anwendet, führt diese Methode in der Regel zur Infektion.

Der Verfasser stellte sich die Aufgabe, die in deutschen Kartoffelherkünften beobachteten Viruskrankheiten unter Zuhilfenahme der neueren Methoden zu analysieren. Die Arbeit ist zur Zeit noch im Gang. Die vorliegende Mitteilung macht mit den bisherigen Ergebnissen dieser Arbeit, soweit sie die mechanisch übertragbaren Viren aus der Mosaikgruppe betreffen, bekannt. Die Ergebnisse der Untersuchungen über das offenbar nicht durch Einreiben übertragbare Blattrollvirus sollen in anderem Zusammenhang veröffentlicht werden.

Methodik.

Zur Infektion wurden immer die unverdünnten Pflanzensäfte verwendet. Unmittelbar nach dem Einreiben wurden die Blätter mit Wasser abgespült, um den überschüssigen Saft zu entfernen. Zur Verhinderung

[1]) Zuerst von Wingard (Journ. Agric. Research 1928. **37**, 127) angegeben.

des zu raschen Austrocknens der Infektionswunden kann man die Pflanzen nach der Beimpfung einige Zeit in den feuchten Raum stellen. Bequemer ist das von Dr. Böhme erprobte Verfahren[1]), wobei die abgeriebenen Blätter einige Zeit mit angefeuchteter Watte oder Filtrierpapier bedeckt bleiben. Durch entsprechende Düngung wurde für eine rasche und kräftige Entwicklung der Pflanzen gesorgt. Die gut isolierten Versuchsräume wurden von Zeit zu Zeit mit einem Nikotinpräparat ausgeräuchert, um das Aufkommen von virusübertragenden Insekten, insbesondere der gefährlichen Blattläuse, zu verhindern. Dies geschah mit vollem Erfolg. Nur in einem einzigen Fall wurde eine spontane Infektion an einer Pflanze beobachtet, diese war vermutlich durch Insekten bewirkt worden. Bei jedem Versuch standen mindestens drei nicht infizierte gleichaltrige Kontrollpflanzen in Beobachtung. In keinem einzigen Fall sind an diesen Kontrollpflanzen Infektionen aufgetreten, wodurch bewiesen wird, daß die Insektenkontrolle befriedigend arbeitete.

Die Uebertragungsversuche mit der Blattlausart *Myzus persicae* ließen sich dadurch wesentlich vereinfachen, daß die Läuse statt auf den ganzen Pflanzen auf abgetrennten Blättern gehalten wurden. Auf diesen verweilten sie einige Tage zur Virusaufnahme und wurden dann auf die zu infizierenden jungen Pflanzen gesetzt. Auf den abgetrennten Blättern fühlten sich die Tiere sehr wohl und vermehrten sich stark. Um das vorzeitige Welken der Blätter zu verhindern, wurden diese in Erlenmeyer-Kolben gestellt, in denen sich Wasser befand, dem eine bestimmte Menge des im Handel befindlichen Präparates „Niwelka" zugesetzt war. Die Erlenmeyer-Kolben mit den Blättern wurden in Zylindergläser versenkt, die oben mit Insektengaze verschlossen wurden und auf deren Boden sich angefeuchtetes Filtrierpapier befand. Auf diese Weise hielten sich die Blätter genügend frisch.

Besondere Sorgfalt wurde auf das Schneiden der Knollenstücke verwendet. Um dabei die Virusübertragung von Knolle zu Knolle zu verhüten, wurde das Messer vor der Berührung mit einer neuen Knolle jedesmal durch Eintauchen in kochendes Wasser desinfiziert. Auch wurde darauf geachtet, daß die Wundflächen der geschnittenen Knollen sich nicht berührten. Die geschnittenen Stücke wurden so gelegt, daß die Schnittflächen rasch abtrocknen konnten.

Experimenteller Teil.

Die in dieser Arbeit mitgeteilten Untersuchungen erstrecken sich vorwiegend auf fünf Virusstämme, die im folgenden als M 23, M 29, H 19, R 77 und G. A. bezeichnet werden. Über ihre Herkunft und Gewinnung und über das Verhalten der Ausgangspflanzen sei folgendes mitgeteilt:

Herkunft der Virusstämme M 23, H 19 und M 29, und das Verhalten der Ausgangspflanzen. Im Herbst 1931 waren mir

[1]) Noch nicht veröffentlicht.

Knollenproben der Kartoffelsorte „Kl. Spiegeler Wohltmann“ von 12 Versuchsstationen der „Deutschen Kartoffelkulturstation“ aus ihren Sortenprüfungen überlassen worden. Alle Proben entstammten dem Nachbau von anerkanntem Originalsaatgut der Ernte des Jahres 1930, das den Versuchsstationen von derselben Anbaustelle geliefert worden war. Über das Gesamtergebnis der Untersuchung dieser Proben berichte ich an anderer Stelle.



Abb. 1.
Blatt von Ausgangspflanze M 23 (Kartoffelsorte Kl. Spiegeler Wohltmann). Seitennerven der Fiedern nach dem Rand hin in schmalen dunklen Bändern verlaufend. (Photographiert am 14. April.)

Aus der Probe „Halle“ (= M) wurden die Virusstämme M 23 und M 29, aus der Probe „Leipzig“ (= H) der Stamm H 19 gewonnen. Dabei wurde die folgende Methode befolgt. Von den einzelnen Knollen wurden im März 1932 die apikalen („Kronen-“) Enden abgeschnitten und gleichlautend mit den Restknollen numeriert. Die Kronenenden wurden sodann im Gewächshaus in Keimkästen ausgepflanzt, die Restknollen zum späteren Auspflanzen auf dem Feld zurückgelegt. Aus den in den Keimkästen ausgepflanzten Kronenenden entwickelten sich rasch Pflanzen, die teils gesund, teils mehr oder minder deutlich viruskrank waren. Einzelne von diesen Pflanzen, die besonders klare und charakteristische Symptome zeigten, sowie augenscheinlich gesunde Pflanzen wurden in große Tontöpfe umgepflanzt und im Gewächshaus weiter beobachtet. Unter diesen befanden sich die Pflanzen M 23, M 29 und H 19. Von ihnen wurden die Virusübertragungen zunächst auf junge Pflanzen von *Nicotiana longiflora* vorgenommen, die dann unter charakteristischen Erscheinungen erkrankten. Die Restknollen wurden zum Vergleich auf dem Versuchsfeld ausgelegt. Über das Verhalten der genannten Gewächshauspflanzen und ihrer Schwesterpflanzen auf dem Feld enthält unser Protokoll folgende Angaben:

M 23.

15. April 1932. Habitus wie normal. Farbeindruck der Blätter im ganzen blaugrün. Seitennerven der Fiedern besonders nach dem Rand hin in schmalen, abnorm dunkelgrünen Bändern verlaufend (Abb. 1). Blätter stärker reflektierend als normal. Anthozyan im Stengel so kräftig wie normal. Keine Kräuselung oder Wellung der Fiedern.

15. Mai 1932. Bandförmige Mosaikfleckung an den jüngeren Blättern sich wieder verlierend.

17. Juni 1932. Feine, aber deutliche Maserung an jüngeren Blättern. Im übrigen Symptome teilweise gänzlich maskiert.

16. Juni 1932. (Feldhälfte) Staude sehr kräftig. Grobfleckiges Mosaik zwischen den Nerven, insbesondere an der Spitze und den Randpartien



Abb. 2.
Links: auf dem Feld erwachsene Schwesterpflanze von M 23. Rechts: gesunde Pflanze aus einer Nachbarreihe zum Vergleich. Beide Feldpflanzen zeigen einen ganz normalen Habitus; die gesunde Pflanze ist zufällig kleiner als die „kranke“.
(Photographiert am 24. Juni.)

der Blättchen von jungen Blättern. Keine krankhafte Veränderung des Habitus, keine Kräuselung oder Wellung der Fiedern (Abb. 2.)

21. Juni 1932. (desgl.) Keine seitlichen Abkrümmungen der Blattspitze. Mit M 23 stimmte die Pflanze M 17 völlig überein.

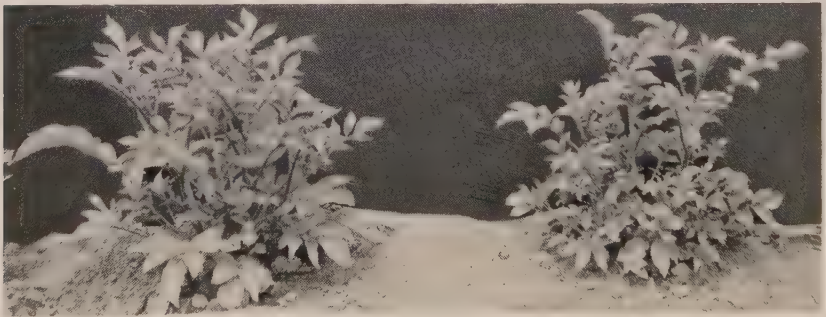


Abb. 3.
Rechts: Feldhälfte der Ausgangspflanze H 19 (Kl. Spiegeler Wohltmann).
Links: gesunde Pflanze aus einer Nachbarreihe zum Vergleich.
Deutlich abweichender Habitus der kranken Pflanze.
(Photographiert am 24. Juni.)

H 19.

15. April 1932. Grobfleckiges Mosaik mit schwacher Randwellung der Fiedern. Wuchshöhe und Anthozyanbildung im Stengel normal.

15. Mai 1932. Charakter im ganzen unverändert.

17. Juni 1932. Kräftig entwickeltes, grobfleckiges, an älteren Blättern sehr deutliches Mosaik mit deutlichen Randwellungen an den stärker ge-

fleckten Blättern. Spitzen der Fiedern im allgemeinen nicht oder weniger gefleckt als das übrige Blatt.

16. Juni 1932. (Feldhälfte) Grobfleckiges, von den Nerven ausgehendes Mosaik mit starker Wellung und Auffaltung bzw. Rollung der Blättchen. Staude kräftig entwickelt. Blattspitzen zuweilen nach rechts oder links gekrümmt (Abb. 3 u. 4). Ähnlich wie H 19 verhielt sich die Pflanze M 18.

M 29.

15. April 1932. Starke Fleckung, mit starker Kräuselung der Blätter verbunden (typisches Kräuselmosaik). Wuchshöhe wie normal. Blattfiedern kleiner als normal, Stengelgrund opak werdend. Beginn von Streifen-



Abb. 4.
Dieselbe Pflanze wie Abb. 3.
(Am 30. Juni von oben photographiert.)

nekrosen am Stengel und an den Rippen der Fiederspitzen-Unterseiten. Anthozyanbildung am Stengel deutlich abgeschwächt.

15. Mai 1932. Charakter im ganzen unverändert.

25. Mai 1932. Infolge Schwarzbeinigkeit eingegangen.

20. Juni 1932. (Feldhälfte) Typisches Kräuselmosaik mit deutlich geschwächter Entwicklung der ganzen Pflanze (Abb. 5).

9. Juli 1932. (desgl.) Die Blätter zeigen ein viel stärkeres Kräuseln als bei H 19 und M 18.

Ähnlich wie M 29 verhielten sich die Pflanzen M 11, M 13, M 16, M 24 und M 25.

Die beiden aus der vollkommen gesunden Abkunft „Königsberg“ stammenden Pflanzen E 25 und E 26 zeigten weder im Gewächshaus noch

auf dem Feld irgendwelche Krankheitserscheinungen. Auch Abreibungen von Saft mit diesen Pflanzen ergaben in keinem Fall Symptome. Sie waren demnach zweifellos gesund. Die Blätter dieser gesunden Pflanzen zeigten im Gewächshaus ein einheitliches sattes Grün, das von dem ins Blaue spielenden Grün der Pflanzen M 23 und M 17 deutlich verschieden war.



Abb. 5.
Feldhälfte der Ausgangspflanze M 29
(Kl. Spiegeler Wohltmann).
(Am 30. Juni von oben photographiert.)

Der Virusstamm G. A. stammte aus einer mosaikkranken Gewächshauspflanze der Sorte Gustav Adolf, von der er durch Übertragung mit *Myzus persicae* gewonnen war. Eingeriebene Tabakpflanzen (Samsun) reagierten einheitlich mit einem feinen Hellerwerden („Clearing") der Nerven, ähnlich wie das K. M. Smith für sein Y-Virus beschrieben hat. Bei nicht zu hohen Temperaturen hält sich das Clearing auch auf den älteren Tabakpflanzen.

Der Virusstamm R 77 stammt von einer Pflanze aus einer 50 Stauden umfassenden Probe einer zum ersten Mal in Dahlem angebauten pommerschen Neuzüchtung. Alle Pflanzen dieser Probe zeigten auf dem Feld überraschend gleichmäßig ein auffälliges grob-gelbscheckiges Mosaik, das mit einer leichten Kräuselung der Blätter einherging. Im August verschwanden die Symptome völlig, und die Pflanzen machten einen normalen Eindruck. Im Juli wurden mit dem Saft von einer dieser Feldpflanzen Abreibungen auf *Nicotiana longiflora* gemacht. Auf sämtlichen sechs eingeriebenen Pflanzen trat eine starke einheitliche Mosaikfleckung auf. Die Symptome waren viel kräftiger, als jemals bei Beimpfung mit M 23 und H 19 beobachtet war. Sie bestanden zu Beginn in einem feinmaschigen Netzmosaik von kräftig gelbgrüner Tönung. Die später entwickelten Blätter bildeten ein verwaschenes, gelbchlorotisches Mosaik.

Zu den folgenden vergleichenden Versuchsserien wurden ausschließlich junge, genügend erstarkte Pflanzen verwendet. Von verschiedenen Tabaksorten erwies sich „Samsun" *(Nicotiana Tabacum)* als besonders geeignet[1]).

[1]) Nach Mitteilung des Tabakforschungsinstituts für das Deutsche Reich in Forchheim bei Karlsruhe (Baden) gehört die Sorte (eine reine Linie, deren nähere Bezeichnung „Samsoun [Bashi Bagli] gestielt" lautet), zu dem einen der beiden Haupttypen der türkischen Tabake. Dem Direktor des genannten Instituts, Herrn Dr. König, spreche ich auch an dieser Stelle für die gefällige Überlassung des Samenmaterials meinen verbindlichsten Dank aus.

Für bestimmte Zwecke war auch *Nicotiana longiflora* brauchbar. Mit diesen beiden Formen wurde dann ausschließlich gearbeitet. Zur Herstellung der Virusgemische wurden die unverdünnten Säfte zu gleichen Teilen vermengt und vor dem Einreiben geschüttelt.

Versuch I. Abreibungen von den Kartoffelpflanzen M 23 und H 19 (Gewächshauspflanzen) auf *Nicotiana longiflora.*
Je drei Pflanzen eingerieben am 10. Juni.

Befund am 16. Juni.

M 23 Auf den eingeriebenen Blättern erscheinen kleine, hellgrüne, kreisförmige Flecken.

H 19 zeigt dasselbe Verhalten wie M 23.

Befund am 21. Juni. a) auf den eingeriebenen Blättern.

M 23 Im Innern der hellgrünen Kreise sind normal grüne Höfe aufgetreten. Diese haben sich vergrößert, so daß hellgrüne Ringe, die einen dunkelgrünen Hof umgeben, entstanden sind. Im Innern des Hofes befindet sich ein zentral gelegener hellgrüner Punkt.

H 19 Deutlicher Unterschied gegenüber M 23, insofern als aus den kreisrunden Flecken keine chlorotischen Ringe entstanden sind. Die Kreise haben sich zwar vergrößert, bleiben jedoch einheitlich hellgrün und gehen vom Rande aus in eine diffuse und verwaschene Fleckung über.

b) auf den nächstjüngeren Blättern.

M 23 Ein feines Netzmosaik tritt auf.

H 19 Das Netzmosaik fehlt.

Befund am 27. Juni.

M 23 Auch an nicht eingeriebenen Blättern treten einzelne chlorotische Ringe auf. Im übrigen schwaches Mosaik an nicht eingeriebenen Blättern.

H 19 Auf einigen Blättern vereinzelte, von den Nerven ausgehende Gelbfleckung.

Befund am 29. Juni.

M 23 Auf den eingeriebenen Blättern sind konzentrisch zu den ursprünglichen Kreisen nekrotische Ringe entstanden, jedoch nur bei einem Teil der ursprünglichen Ringe.

H 19 verhält sich ähnlich wie M 23, mit dem Unterschied, daß häufig statt eines nekrotischen Ringes mehrere konzentrische Ringe entstanden sind.

Ergebnis: Die beiden Virusstämme weisen deutliche, wenn auch nicht sehr auffällige Verschiedenheiten auf.

Versuch II. Abreibungen von den longiflora-Pflanzen des vorigen Versuchs auf Samsun-Tabak.

Je vier Pflanzen eingerieben am 28. Juni.

Befund am 2. Juli.

M 23 und H 19 Auftreten hellgrüner kreisrunder Flecken auf den eingeriebenen Blättern. Bei H 19 sind die Kreise weniger deutlich abgegrenzt und mehr diffus als bei M 23.

Befund am 4. Juli.

M 23 Aus den hellgrünen kreisrunden Flecken sind wieder deutliche chlorotische Ringe entstanden.

H 19 Kreisförmige Flecken verwaschen und kaum noch sichtbar. Keine chlorotischen Ringe.

Befund am 5. Juli.

M 23 Helle Ringe (diese vorzugsweise an der Blattspitze) vergrößert. Auf jüngeren Blättern feines Gänsehautmosaik.

H 19 Einzelne nekrotische Stippen auf den eingeriebenen Blättern, sonst keine sicheren Symptome.

Befund am 6. Juli an den jüngeren nicht eingeriebenen Blättern.

M 23 Feine punktförmige Mosaikfleckungen zwischen den Nerven, die Nervenendigungen aufhellend.

H 19 Feine nekrotische Stippen über das ganze Blatt verstreut.

Befund am 9. Juli.

M 23 An den nicht eingeriebenen Blättern ist ein deutliches Mosaik in Gestalt von chlorotischen Ringen oder unregelmäßigen Höfen erschienen.

H 19 Keine Mosaikfleckung. Nekrotische Stippen etwas größer.

Befund am 11. Juli.

M 23 Chlorotische Ringe an jüngeren Blättern, vielfach in eine pastose Maserung übergehend.

H 19 Flockige gelbgrüne Fleckung, besonders im Raum zwischen den Nerven, und zwar auf den Blättern, auf denen vorher die Stippen erschienen waren.

Befund am 12. Juli.

M 23 An jüngeren Blättern schöne ringförmige Chlorosen (nicht nekrotisch) oder auch unregelmäßige Masern.

H 19 Schwaches Aufhellen der Nerven, außerdem unvollständige kleine Ringnekrosen (Abb. 6).

Befund am 10. August.

M 23 behält seinen Charakter bei, desgleichen H 19. Bei letzterem nehmen die nekrotischen Stippen öfters die Form von meist unvollkommenen Ringen an. Selten sind die nekrotischen Ringe vollständig.

Ergebnis: wie bei Versuch I weisen die beiden Virusstämme deutliche Verschiedenheiten auf.

Versuch III. Einreibungen von den Ausgangspflanzen (Gewächshauspflanzen) auf Samsun.

Je drei Pflanzen eingerieben am 24. Juni.

Befund am 5. Juli.

M 23 Auf den nicht eingeriebenen nächsthöheren Blättern vereinzelte nekrotische Ringe.

H 19 Auf ebendenselben Blättern ziemlich viele nekrotische Ringe.

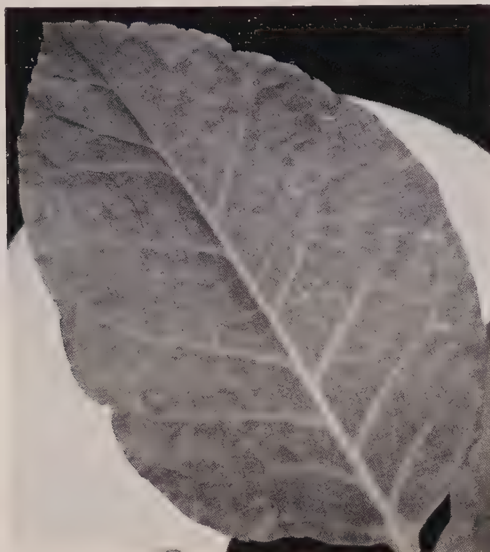


Abb. 6.
H 19 auf Samsun-Tabak. (Photographiert am 12. Juli.)

Die Temperaturen in dem Versuchsraum waren sehr hoch und ließen die Symptome nicht genügend zur Entwicklung kommen. Deutlich erschienen diese nach Versetzung der Pflanzen in einen kühleren Raum:

Befund am 11. Juli.

M 23 Sehr zahlreiche deutliche, kleine, hellgrüne Ringchlorosen auf den späteren, nicht eingeriebenen Blättern; von der Blattspitze ausgehend.

H 19 Gelbgrüne verwaschene Maserung auf späteren Blättern, ebenfalls von der Blattspitze ausgehend.

Befund am 10. August.

M 23 und H 19 sind einander so ähnlich geworden, daß sie sich nicht mehr unterscheiden lassen. Die Kontrollpflanzen sind vollkommen gesund.

Ergebnis: Der Versuch bestätigt das Ergebnis der Versuche I und II. Die beiden Virusstämme sind deutlich voneinander verschieden, obgleich in bestimmten Entwicklungsstadien offenbar eine weitgehende Angleichung zustande kommen kann.

Versuch IV. Abreibungen auf Samsun-Tabak mit vier Virusstämmen, nämlich:

M 23 (Saft gewonnen aus N. longiflora)
H 19 (desgleichen)
M 29 (Saft aus Burley-Tabak)



Abb. 7.
R 77 auf Samsun-Tabak.
(Photographiert am 29. August.)

R 77 (Saft aus N. longiflora)
Je drei Pflanzen eingerieben am 12. August.

Befund am 18. August.

M 23 An allen drei Pflanzen ziemlich viele, schon große, mehr oder weniger deutliche, helle Kreise.
H 19 Keine Symptome.
M 29 (versehentlich nicht notiert)
R 77 Keine Symptome.

Befund am 23. August.

M 23 Zerstreute halb oder schwach ausgebildete nekrotische Ringe auf eingeriebenen und nicht eingeriebenen Blättern.
H 19 desgleichen jedoch viel mehr Ringe.
M 29 wie bei M 23.
R 77 schwaches Clearing (Aufhellen der Nerven). Keine sicheren Symptome auf den eingeriebenen Blättern.

Befund am 27. August.

M 23 Überall sehr ausgesprochene Ringchlorosen. Außerdem wenige zerstreute nekrotische Stippen auf den älteren Blättern. Nekrotische Ringe zahlreich.

H 19 Auf älteren Blättern zerstreute, ziemlich zahlreiche nekrotische Stippen von den Blattspitzen her erscheinend. Ringchlorosen unvollständig und undeutlich.

M 29 Sehr ausgesprochene Aufhellung der Nervenabzweigungen dritter und vierter Ordnung. Die Symptome sind von M 23 und H 19 deutlich verschieden. Schwache Ringchlorosen.

R 77 Übereinstimmung mit M 29, jedoch mit dem Unterschied, daß von Anfang an keine nekrotischen Ringe oder Stippen auftreten. Zeigt übereinstimmend mit M 29 schwache Aufrauhung der Blattflächen, auf denen die Mosaiksymptome erscheinen (Abb. 7 und 8).

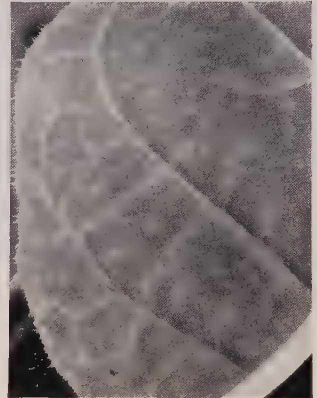


Abb. 8.
R 77 auf Samsun-Tabak (vergrößert).
(Durch Leselupe photograph. Ende September.)

Befund am 29. August.

M 23 Sehr kräftige schöne Ausbildung von typischen Ringchlorosen.

H 19 Keine Andeutung von ringförmigen Chlorosen mehr zu sehen. Ringnekrosen, aus nekrotischen Stippen hervorgehend, setzen sich auf jüngeren Blättern fort.

M 29 nähert sich mehr und mehr R 77, das seinen Charakter beibehalten hat; Ringtendenz wird mehr und mehr unterdrückt.

Befund am 30. August.

Zwischen M 29 und R 77 zeigen sich neuerdings wieder sehr deutliche Verschiedenheiten an allen drei Pflanzen. Es treten nämlich bei M 29 auf den mosaikkranken Blättern zahlreiche Ringnekrosen auf, bei R 77 fehlen diese völlig.

Befund am 3. September.

Bei allen Pflanzen gehen die Mosaiksymptome immer mehr zurück, d. h. sie verschwinden an den älteren Blättern, und an den jüngeren bleiben sie nur kurze Zeit sichtbar. Nur die nekrotischen Flecken und Kreise bleiben erhalten und ermöglichen noch die Unterscheidung der vier Typen.

Ergebnis: M 29 und R 77 sind verwandte Erscheinungen und von M 23 und H 19 zweifellos verschieden. Vermutlich besteht M 29 aus einem Gemisch von R 77 mit einem anderen Virus.

Versuch V. Abreibungen von M 23 und H 19 auf N. longiflora. Je drei Pflanzen eingerieben am 11. Juli.

Befund am 10. August.

M 23 Starke, unregelmäßige, zuweilen beinahe pastose Gelbgrünfleckung vorwiegend an den jüngeren Blättern. An den eingeriebenen Blättern konzentrische nekrotische Ringe.

H 19 Fleckung flockiger und lockerer. Verfärbung deutlich schwächer. An den eingeriebenen Blättern ebenfalls nekrotische Ringe.

Ergebnis: Das Ergebnis der bisherigen Versuche über die Ähnlichkeit aber auch Verschiedenheit der beiden Virusstämme wird bestätigt.

Versuch VI. Abreibungen mit Saft von Samsunpflanzen auf Samsun und zwar:

1. M 23
2. H 19
3. R 77
4. G. A.
5. M 29
6. Saftgemisch M 23 + R 77
7. desgleichen M 23 + G. A.

Der Saft war mit Ausnahme des G. A.-Stammes durchweg aus Pflanzen von Versuch IV gewonnen. Das G. A. Virus stammte ebenfalls von einer Samsunpflanze, jedoch aus einem andern Versuch. Je drei Pflanzen wurden am 23. August eingerieben.

Befund am 6. September.

M 23 Auftreten von ± deutlichen Kreisen auf den eingeriebenen Blättern (zum Teil mit konzentrischen Nekrosen)

H 19 Ähnlich wie M 23, jedoch schwächer.

R 77 Keine Symptome.

M 29 Wie bei M 23 und H 19.

M 23 + R 77. Wie bei M 23.

M 23 + G. A. Deutliche Aufhellung der Nervenbahnen an den jüngsten nicht eingeriebenen Blättern, verbunden mit Aufbeulungen der Blattfläche.

Befund am 8. September.

M 23 Auf den eingeriebenen Blättern im Gegensatz zu sonst keine chlorotischen Ringe, sondern pulverig-stippige Verfärbung.

H 19 Ähnlich wie M 23, jedoch schwächer.

R 77 Fast durchweg kräftiges Clearing, jedoch ohne jede nekrotische Stippen.

G. A. Schwaches Clearing.

M 29 Kräftiges Clearing, außerdem zerstreute nekrotische Stippen.

M 23 + R 77 Mit M 29 völlig übereinstimmend.

M 23 + G. A. Auf jüngeren Blättern Nervenbahnen auffällig hell und breit, teilweise nekrotisch werdend. Blätter verkrüppeln (Abb. 9) Von der Kombination M 23 + R 77 grundverschieden.

N. B. Vermutlich infolge der starken Temperaturschwankungen traten bei M 23 und H 19 an Stelle von nekrotischen Ringen und Ringchlorosen nekrotische Stippen auf.

Befund am 12. September.

M 23 Ringe und „line patterns", wie sie für das X-Virus von K. M. Smith charakteristisch sind.

H 19 Ähnlich wie M 23, jedoch allgemein deutlich schwächer.

R 77 Hellgelbe, zum Teil fein-nekrotische Fleckung im Verlauf der Nerven, so daß eine Art unregelmäßiger, den Nerven folgender



Abb. 9.
Kombination von M 23 und G. A. auf Samsun.
(Photographiert am 9. September.)

Bänderung entsteht. Diese Bänder sind nicht stetig, sondern unterbrochen.

G. A. Schönes, stetiges, feines Clearing der jüngeren Blätter.

M 29 Wie R 77, dazu außerdem noch ± regelmäßige Ringnekrosen im Verlauf der Nerven.

M 23 + R 77 Mit M 29 vollkommen übereinstimmend, jedoch Ringnekrosen anscheinend etwas schwächer.

M 23 + G. A. Breite helle Nervenbahnen an jüngeren Blättern, teilweise nekrotisch. Ganze Pflanze im Wachstum gehemmt.

Befund am 27. September.

M 23 Entwickelt weiter die charakteristischen X-Symptome.

H 19 Bildet ähnliche Symptome wie M 23, jedoch durchweg deutlich schwächer. Die Serie macht von allen den gesündesten Eindruck, unterscheidet sich aber doch deutlich von den nicht infizierten Kontrollpflanzen.

R 77 Auf den älteren Blättern sind deutliche Ringnekrosen, zum Teil in konzentrischer Anordnung erschienen, jedoch nirgends Ringchlorosen, wie bei M 23 oder schwächer bei H 19.

G. A. Zeigt immer noch die schöne charakteristische Aufhellung der Nerven ohne weitere Symptome.

M 29 und (M 23 + R 77) verhalten sich jetzt völlig übereinstimmend.

M 23 + G. A. entwickelt sich weiterhin kümmerlich. Die Blätter sind kleiner, die Pflanzen niedriger.

Ergebnis: M 29 entspricht nicht einem Gemisch M 23 + G. A., wie etwa nach früheren Ergebnissen vermutet werden konnte, sondern in jeder Hinsicht einem Gemisch M 23 + R 77. R 77 ist weder mit G. A., noch mit M 23 oder H 19 identisch, sondern stellt vermutlich ein selbständiges Virus vor.

Versuch VII. Abreibungen von Samsun auf Samsun und zwar je drei Pflanzen mit:

1. M 23	6. M 23 + R 77
2. H 19	7. R 77 + G. A.
3. R 77	8. H 19 + G. A.
4. G. A.	9. H 19 + R 77
5. M 29	10. H 19 + M 23

Je drei Pflanzen eingerieben am 14. September.

Befund am 24. September.

M 23 Zeigt die üblichen kreisförmigen Initialsymptome, sonst nichts.

H 19 Keine sicheren Symptome vorhanden.

R 77 Schwache Symptome von der Spitze her beginnend bei einer Pflanze.

G. A. Schwaches aber deutliches Clearing.

M 29 Nervenbahnen aufgehellt.

M 23 + R 77. Auf den eingeriebenen Blättern nekrotische Stippen, sonst keine Symptome.

R 77 + G. A. Nervenbahnen hell und breit (genau wie beim Gemisch M 23 + G. A. des vorigen Versuchs). Dazu Kräuseln der betreffenden Blätter. Keine nekrotischen Stippen auf der Fläche zwischen den Nerven.

H 19 + G. A. Völlig übereinstimmend mit R 77 + G. A., jedoch Symptome etwas verzögert.

H 19 + R 77 Noch keine sicheren Symptome.

H 19 + M 23 Noch keine sicheren Symptome.

Befund am 26. September.

M 23 Schwache Allgemeinsymptome (Mosaikfleckung mit Ringtendenz)

H 19 desgl. nur schwächer.

R 77 zeigt die gleichen charakteristischen Symptome wie im vorhergehenden Versuch.

G. A. Deutliches charakteristisches Clearing.

M 29 und (M 23 + R 77) zeigen wie im vorigen Versuch völlige Übereinstimmung. Bei beiden deutliches Praevalieren der R 77-Symptome. Nerven hell, aber unterbrochen und ganz anders als bei M 23 + G. A. Auch kein eigentliches Blattkräuseln, sondern nur schwache Aufrauhung der Blattflächen.

(R 77 + G. A.) und (H 19 + G. A.) stimmen völlig miteinander überein und zeigen das gleiche Krankheitsbild wie die Kombi-



Abb. 10.
Kombination von R 77 und G. A. auf Samsun.
(Photographiert am 26. September.)

nation M 23 + G. A des vorigen Versuchs, nämlich helle breite Nervenbahnen, die auf große Strecken nekrotisch werden.[1] Deutliches Kräuseln der Blätter und Kümmern der ganzen Pflanze (Abb. 10).

H 19 + R 77 Ähnlich wie M 29 (bzw. M 23 + R 77), jedoch deutlich schwächer.

H 19 + M 23 Wie bei M 23. Kein Sichtbarwerden des H 19-Einflusses.

Befund am 8. Oktober.

Zwischen den beiden Kombinationen (G. A. + H 19) und (G. A. + R 77) sind an den später erschienenen Blättern gewisse Unterschiede aufgetreten. Dagegen entwickelt die Kombination G. A. + H 19 einen ganz ähnlichen Charakter wie die Kombination G. A. + M 23 von Versuch VI. Dies scheint zu lehren, daß die beiden Viren M 23 und H 19 einander näher stehen als dem Virus R 77.

---

[1]) Vgl. auch die Abb. B, Plate I bei J. Johnson (a.a.O. 1925). Das dort abgebildete Blatt zeigt die gleichen Symptome.

Ergebnis:

1. R 77 ist ein selbständiges Virus; G. A. ist darin nicht enthalten.
2. R 77 scheint mit den beiden Virusstämmen M 23 und H 19 in gewissem Sinn verwandt zu sein, denn es verhält sich in der Kombination mit G. A. anfangs genau wie diese.
3. Es ist bemerkenswert, daß vorübergehend das gleiche bösartige Krankheitsbild aus der Kombination verschiedener Viren mit dem G. A.-Virus entstehen kann.
4. In M 29 ist das G. A.-Virus nicht enthalten.
5. M 23 und H 19 sind offenbar eng verwandte, aber konstant verschiedene, vielleicht nur quantitativ verschiedene Viren. Mischt man

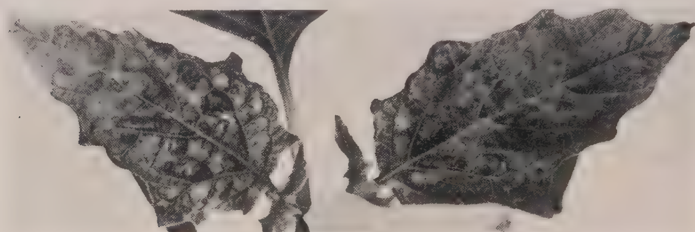


Abb. 11.
M 23 auf *Datura Stramonium.*
(Photographiert am 9. September.)

sie, so tritt beim Tabak keine oder nur eine geringe Verstärkung der Symptome ein.
6. Es wird das Ergebnis von Versuch VI bestätigt, daß M 29 einem Gemisch von R 77 + M 23 entspricht (nicht etwa einem Gemisch von R 77 + H 19).

Versuch VIII. Vergleich von M 23, H 19 und R 77 auf Datura Stramonium.

Je drei Pflanzen mit Saft von Samsunpflanzen eingerieben am 30. August.

Befund am 6. September.

M 23 Auf den jüngsten eingeriebenen Blättern kräftiges Netzmosaik (Nerven hell, das übrige dunkel), außerdem nadelstichähnliche nekrotische Stippen über das Blatt zerstreut.

H 19 Ähnlich wie vorher, jedoch schwächer. Nadelstichsymptome nicht so deutlich.

R 77 Mosaik noch schwächer. Keine Nadelstichsymptome.

Befund am 8. September.

M 23 An den nicht eingeriebenen nächsthöheren Blättern kräftiges unregelmäßiges Mosaik mit Aufbeulungen der Blattfläche. Blattspitzen mit nekrotischen Stippen (Abb. 11).

H 19 Kräftiges regelmäßiges Mosaik auf den entsprechenden Blättern. (Nerven dunkel, dazwischen hellgelbliche Fleckung) Blattflächen nicht gebeult. Blattspitzen mit nekrotischen Stippen (Abb. 12).

R 77 Ähnlich wie bei H 19, nur Gelbfleckung deutlich schwächer. Blattspitzen ohne nekrotische Stippen.

Ergebnis: Die drei Vieren zeigen auf Datura Stramonium etwa übereinstimmenden Infektionscharakter. Die Unterschiede sind quantitative. Die Fleckung ist bei M 23 am stärksten, bei R 77 am schwächsten ausgeprägt; H 19 nimmt eine Mittelstellung ein.



Abb. 12.
H 19 auf *Datura Stramonium.*
(Photographiert am 9. September.)

Versuch IX. Vergleich von M 23, H 19 und R 77 auf Petunia nyctaginiflora. (Parallelversuch zu Versuch VIII unter Verwendung der gleichen Säfte).

Je drei Pflanzen mit Saft von Samsunpflanzen eingerieben am 30. August. Die Symptome erscheinen gegenüber Versuch VIII stark verzögert.

Befund am 28. September.

M 23 Bei keiner der drei Pflanzen sind irgendwelche Symptome vorhanden.

H 19 Feines, aber deutliches hellfleckiges Mosaik an jüngeren Blättern. Zerstreute, schwärzliche, nekrotische Flecke an diesen mosaikbunten Blättern. Die drei Pflanzen verhalten sich übereinstimmend.

R 77 An jungen Blättern von allen drei Pflanzen an einzelnen Stellen schwache Mosaikfleckung. Dazu sehr feine, schwarze, oberflächliche nekrotische Stippen im Bereich der Fleckung.

Befund am 24. Oktober.

M 23 Noch keine Symptome.

H 19 Mosaikfleckung jetzt bei allen Pflanzen an wachsenden Seitensprossen zu einer kräftigen Bänderung der Nerven übergehend. (Abb. 13).

R 77 Übergänge zwischen feinpulverigem Mosaik und schwach ausgeprägter Nervenbänderung.

Ergebnis: Die drei Virusstämme sind bestimmt nicht identisch.

Versuch X.

Vorbemerkung: Bei *N. longiflora* treten auf den eingeriebenen Blättern die Initialsymptome („Läsionen") von M 23 gelegentlich sehr deutlich hervor, desgl. auf den späteren Blättern die Anfangssymptome von R 77. Bei Beimpfung mit M 29 muß demnach der Mischcharakter dadurch deutlich zum Ausdruck kommen, daß sich zuerst auf den eingeriebenen Blättern die für M 23 charakteristischen Initialsymptome ausbilden, denen später auf den jüngeren Blättern die Anfangssymptome von R 77 folgen müssen. Der nachstehende Versuch zeigt, daß dies tatsächlich zutrifft. Zum weiteren Vergleich wurde dem Versuch noch H 19 beigesellt.



Abb. 13.
H 19 auf Petunia (Seitensproß). (Photographiert am 28. Oktober.)

Je drei Pflanzen von N. longiflora wurden am 5. September mit Saft von Samsun eingerieben.

Befund am 12. September.

M 29 Auf den eingeriebenen Blättern erscheinen kleine runde Kreise in großer Zahl.

H 19 verhält sich wie M 29.

R 77 Statt der Kreise sind helle Flecken erschienen. Oberfläche der eingeriebenen Blätter feinpockig.

Befund am 17. September.

M 29 Auf den jeweils ältesten der von jeder Pflanze eingeriebenen drei Blätter sind große, stark konturierte nekrotische Ringe mit nekrotischen Mittelpunkten erschienen. Auf den jüngeren Blättern die gleichen Erscheinungen wie bei R 77.

H 19 Auf den eingeriebenen Blättern finden sich nur ganz vereinzelt konzentrische Ringe. Auf den nicht eingeriebenen jüngeren Blättern sind keine sicheren Symptome vorhanden.

R 77 Auf den älteren eingeriebenen Blättern vereinzelt nekrotische Ringe mit nur dünner Kontur und ohne nekrotischen Mittelpunkt. Auf jüngeren Blättern die bekannten Symptome erscheinend.

Ergebnis: Der Versuch beweist aufs neue die Verschiedenartigkeit der drei Virusstämme M 29, H 19 und R 77 und erhärtet die Auffassung, daß M 29 einem Gemisch von M 23 + R 77 entspricht.

Versuch XIa. Abreibungen von den Daturapflanzen des Versuchs VIII auf Samsun.

Eingerieben am 27. September. (Die Nachttemperaturen in den ersten 10 Tagen lagen durchschnittlich nur bei etwa 15 ^{0}).

Befund am 10. Oktober.

M 23 An einer von drei Pflanzen von der Blattspitze her Mosaikfleckung mit meist unvollständigen Ringnekrosen.

H 19 Alle drei Pflanzen von der Blattspitze her feine Mosaikfleckung und dazu meist unvollständige Ringnekrosen zeigend.

R 77 Wie vorher, jedoch Ringnekrosen meist größer und unregelmäßiger. Nekrosen in Kurvenform.

Befund am 12. Oktober.

M 23 Eine Pflanze mit deutlichen Allgemeinsymptomen, zwei Pflanzen mit beginnenden Allgemeinsymptomen.

H 19 An allen drei Pflanzen von der Spitze her fortschreitend meist unvollständige Ringbildung.

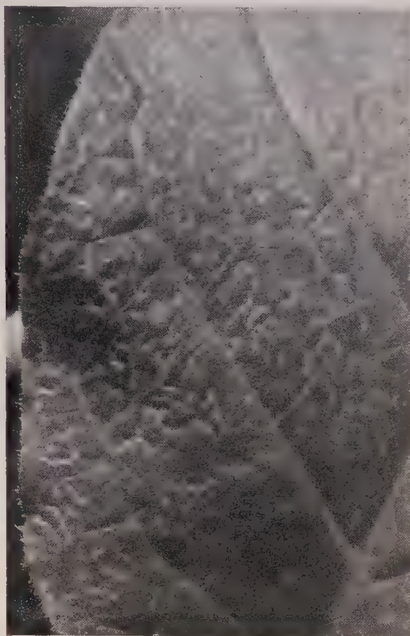


Abb. 14.
Abimpfung des R 77-Virus von Datura auf Samsun-Tabak.
(Photographiert am 28. Oktober).

R 77 Von der Spitze her Schildpattmuster ausbildend.

Befund am 19. Oktober.

M 23 Alle drei Pflanzen mit typischen X-Symptomen. Aeltere Blätter mit kräftigen kurvenförmigen Nekrosen.

H 19 und R 77 Im Ganzen keine sicheren Unterschiede mehr zwischen beiden vorhanden. Aeltere Blätter mit feinen kurvenförmigen Nekrosen (Abb. 14).

Befund am 27. Oktober.

Die drei Viren sind wieder deutlich verschieden. Ähnlicher sind sich jetzt M 23 und H 19.

Versuch XIb. Abreibungen von den Petunia-Pflanzen des Versuchs IX auf Samsun (Parallelversuch zu Versuch XIa).

Eingerieben am 5. Oktober.

Befund am 10. Oktober.

M 23 Keine Symptome.

H 19 und R 77 Auf den eingeriebenen Blättern deutliche kleine Ringnekrosen mit nekrotischem Mittelpunkt.

Befund am 12. Oktober.

M 23 Keine Symptome.

H 19 Ringe zum Teil vergrößert.

R 77 Ringe kaum vergrößert.

Befund am 15. Oktober.

M 23 Unverändert.

H 19 Beginn der typischen Allgemeinerkrankung an einem Blatt.

R 77 Auf den eingeriebenen Blättern sind neue konzentrische Ringe um einen Teil der alten entstanden. Beginn der Allgemeinsymptome.

Befund am 19. Oktober.

M 23 Noch keine Symptome.

H 19 und R 77 Im ganzen keine sicheren Unterschiede mehr zwischen beiden Stämmen.

Ergebnis: In Versuch IX waren nach Einreibungen mit M 23 auf Petunia keine Symptome erschienen. Dies konnte entweder darauf beruhen, daß diese Art wirklich immun gegen das Virus ist oder darauf, daß sie dem Virus zugänglich ist und daß die betr. Pflanzen das Virus in versteckter Form enthalten haben (latente Infektion). Im letzteren Falle hätten bei Abreibungen auf Samsun die charakteristischen Symptome erscheinen müssen. Dies war, wie Versuch XIb zeigt, nicht der Fall. Wir können also schließen, daß Petunia gegen den Virusstamm M 23 tatsächlich immun ist. Auch in dieser Hinsicht stimmt demnach M 23 mit dem Smith'schen X-Virus überein.

Vergleich der Versuchsreihen XIa und XIb.

H 19 Anfangs zeigten die Petunia- und Datura-Abimpfungen gegenüber der Samsun-Abimpfung eine deutliche Abschwächung. Später trat ein völliger Ausgleich ein. Die Eigenschaften des Virus waren durch die verschiedenen Passagen offenbar nicht verändert worden.

R 77 Die Datura-Passage zeigte anfangs deutlich schwächere Symptome als die Petunien-Passage. Später trat ebenfalls völliger Ausgleich ein.

M 23 Die Datura-Nachimpfung unterschied sich von Anfang an in keiner Weise von der Tabak-Nachimpfung. Beide Nachimpfungen zeigten die typischen M 23-Symptome von Anfang an sehr kräftig und unterschieden sich sehr deutlich von H 19 und R 77. Später trat wieder eine Angleichung an H 19 ein.

Versuch XII.

Um die Frage zu klären, ob die Virulenzabschwächung, die sich in manchen Reihen des Versuchs XI anfangs gezeigt hatte, auch bei einer

zweiten Nachimpfung noch anhält, wurden Nachimpfungen von den Pflanzen der Versuche XIa und XIb auf Samsun ausgeführt. Das Ergebnis war folgendes:

H 19 Sämtliche Nachimpfungen stimmten von Anfang an unter sich und mit der reinen Tabaknachimpfung überein. Von einer Nachwirkung der Datura- oder Petunia-Passage war nichts mehr zu bemerken.

R 77 Bei den Nachimpfungen der Petunia- und Datura-Passagen waren die Symptome anfangs schwächer als bei der reinen Samsun-Nachimpfung. Die ursprüngliche Virulenz war also noch nicht zurückgekehrt. An den älteren Pflanzen trat wieder ein vollkommener Ausgleich ein.

M 23 Die Datura-Nachimpfung und die reine Samsun-Nachimpfung unterschieden sich wieder in keiner Weise voneinander.

Allgemeine Charakterisierung der Virusstämme und ihrer Gemische.

Das G. A.-Virus entspricht weitgehend dem sehr verbreiteten Y-Virus von K. M. Smith[1]). Die Identität ist allerdings noch nicht ganz gesichert, da Beobachtungen über das Verhalten auf Petunia und Datura noch ausstehen. Der Samsuntabak reagiert auf das G. A.-Virus, wenn die Temperaturen nicht zu hoch oder zu niedrig sind, mit einer zarten Aufhellung der Nerven, gleich ob die Übertragung durch *Myzus persicae* oder vermittels Einreiben vorgenommen wird. An älteren, in der Jugend infizierten Pflanzen tritt dazu häufig eine schwache Mosaikfleckung. Nekrotische Stippen oder Ringe fehlen vollkommen, und die Blätter bleiben stets glatt. Im übrigen verläuft die Entwicklung der Tabak-Pflanzen ungestört; Gestaltveränderungen kommen nicht vor.

Das M 23-Virus entspricht weitgehend dem ebenfalls sehr weit verbreiteten X-Virus von K. M. Smith[1]) und ist allem Anschein nach mit ihm identisch. Wie dieses wird es nicht durch *Myzus persicae* übertragen, auch vermag es Petunia nicht anzugreifen. Auch die Beschreibung, die James Johnson[2]) (1925) von seinem von Kartoffeln stammenden „Ring-Spot"-Virus gibt, stimmt mit unseren Beobachtungen gut überein.

Das R 77-Virus ist zweifellos ein selbständiges Virus. Es war in zwei verschiedenen Kartoffelherkünften (Muhlendorf-Pommern und Halle a. S.) enthalten. Die Symptome auf dem Tabak beginnen im Sommer mit einem meist kräftigen Hellerwerden der Nerven, das jedoch in der Regel von dem Clearing des G.A.-Virus deutlich verschieden ist. Von der Infektion bis zum Auftreten dieses Symptoms verstreichen neun bis elf Tage. Meist zeigt

---

[1]) Smith, K. M., Proc. Roy. Soc. London. B, 1931. **109**, 251.

[2]) Johnson, James, Agric. Exp. Stat. Univ. Wisconsin, Madison. Res. Bull. **63**. 1925. — Ebenda Res. Bull. **87**. 1929.

das Clearing einen deutlichen Stich ins Gelbe, während dasjenige des G.A.-Virus lediglich in einem Hellerwerden ohne Farbänderung besteht. Auch ist das Clearing bei R 77 in der Regel nicht gleichmäßig stetig, zeigt vielmehr einen unterbrochenen Verlauf. Verwechslungen sind gleichwohl möglich, insbesondere bei Blättern, die im Zeitpunkt der Infektion annähernd ausgewachsen waren und dann ein sehr blasses Clearing zeigen. Später werden die Unterschiede gegenüber dem G.A.-Virus immer ausgesprochener. Es entsteht eine vorwiegend dem Verlauf der Nerven folgende, dann auch auf die Zwischenpartien übergehende pulverig gelbe Zeichnung; die Blätter erfahren häufig eine leichte Aufrauhung, die sich später wieder verliert.

Im Herbst zeigen sich auf den eingeriebenen Blättern als Initialsymptome ganz ähnliche kreisförmige Flecken und ringförmige Nekrosen, wie sie für M 23 kennzeichnend sind. Auch an anderen Blättern können im Herbst auffällige Nekrosen auftreten, die je nach den Außenbedingungen ein sehr wechselndes Bild zeigen. M 23-ähnlich sind sie dann, wenn sie Ringform aufweisen. Gelegentlich verlaufen sie auch in Form von dünnen Streifen parallel zu den Nerven. Auch dieses Symptom wird bei M 23 gelegentlich beobachtet. Manchmal verlaufen die Nekrosen in Form von feinen Kurven und unregelmäßigen Schlängelungen (Abb. 14), wie solche in so zarter Ausbildung bei M 23 nie, wohl aber ähnlich bei H 19 beobachtet wurden. Von *Myzus persicae* wird das R 77-Virus nicht übertragen.

Auch der H 19-Stamm ist als ein selbständiges Virus aufzufassen. Zwischen dem M 23-Virus und dem R 77-Virus nimmt es eine Art Zwischenstellung ein insofern, als es bezüglich der Frühsymptome im allgemeinen eine starke Angleichung an das letztere, bezüglich der Spätsymptome an das erstere zu zeigen pflegt. Völlige Übereinstimmung konnte allerdings nur selten beobachtet werden, in der Regel sind die Unterschiede im ganzen so deutlich, daß sie zu einer sicheren Differenzierung hinreichen. H 19 wird wie R 77 durch *Myzus persicae* nicht übertragen. Wie dieses ist es auf Petunia übertragbar.

Der M 29-Stamm hat sich als ein Gemisch aus M 23 mit R 77 erwiesen. Die Vermutung, die durch die starken Kräuselerscheinungen an der Ausgangspflanze (im Gewächshaus und auf dem Feld) und die starken Mosaikerscheinungen bei Tabakabreibungen nahegelegt wurde, daß das G.A.-Virus darin enthalten sein könnte, hat sich nicht bestätigt. Mehrfache Übertragungsversuche mit *Myzus persicae*, sowohl von der Ausgangspflanze wie auch von den Tabakabreibungen, wobei gleichzeitig positive Übertragungen mit dem G.A.-Virus zur Kontrolle dienten, verliefen stets negativ. Außerdem wurde durch synthetische Versuche gezeigt, daß das G.A.-Virus nicht in dem Stamm enthalten war.

Die Viren R 77 und H 19 sind bisher augenscheinlich nicht, jedenfalls noch nicht näher beschrieben worden. Vielleicht stehen sie mit den

Etch-Viren von E. M. Johnson [1]) in näherer Beziehung. Es handelt sich bei diesen Etch-Viren um drei verschiedene, einander zweifellos sehr nahe stehende Viren, die in Kentucky (Vereinigte Staaten) offenbar häufig auf abgebauten Kartoffeln vorkommen und von da auf den Tabak übergehen. Auch einige Abbildungen, die K. M. Smith [2]) in seiner Arbeit (1929) bringt, lassen mich vermuten, daß er es bei seinem Ring-Spot-Virus ursprünglich mit einem Gemisch seines späteren X-Virus mit einem dieser Viren (vielleicht H 19?) zu tun hatte, woraus sich vielleicht die von ihm beobachteten großen Virulenzschwankungen zum Teil erklären ließen.

Vier verschiedene Umstände sprechen für die nahe Verwandtschaft der drei Viren M 23, R 77 und H 19.

1. Nach Beobachtungen an den Knollenproben, die mir von den verschiedenen Anbaustellen der Deutschen Kartoffelkulturstation zugegangen waren, waren die drei Viren auffälligerweise nur in den beiden Herkünften aus Halle a. S. und Leipzig enthalten, nicht jedoch in den andern 10 Herkünften aus dem Reich. Sie hängen also epidemiologisch zusammen. Vermutlich werden sie durch ein und dieselbe Insektenart übertragen, die hauptsächlich in dem Landstrich Halle-Leipzig verbreitet ist. Dahingehende Nachforschungen wären erwünscht. Vielleicht besteht ein Zusammenhang mit dem Zuckerrübenbau.

2. Die drei genannten Viren werden nicht durch *Myzus persicae* übertragen.

3. Die Ähnlichkeit des Krankheitsbildes ist eine sehr weitgehende. Eine Reihe von Symptomen sind allen drei Viren gemeinsam, wenngleich diese Symptome unter übereinstimmenden Bedingungen in der Regel nicht gleichzeitig und nicht mit gleicher Stärke aufzutreten pflegen.

4. In der Kombination mit dem G. A.-Virus zeigen die drei Viren ein übereinstimmendes Verhalten, wie im folgenden noch näher ausgeführt wird.

Das Krankheitsbild der mit dem G. A.-Virus kombinierten Viren zeigt einen neuen, offenbar bösartigen Charakter und stellt nicht einfach eine Vermischung der Symptome der Einzelviren vor. Bemerkenswert ist ferner die auffallende Gleichartigkeit des Krankheitsbildes, die diese drei Viruskombinationen auszeichnet. Die Gleichartigkeit könnte darauf beruhen, daß diese Viren in eine und dieselbe Lebensfunktion der Zelle, wenn auch nicht in durchaus gleicher Weise, störend eingreifen, so daß sie beim Zusammentreffen mit dem G. A.-Virus, das vermutlich eine ganz andere Funktion störend beeinflußt, auch die gleiche Wirkung hervorrufen.

---

[1]) Johnson, E. M., Virus diseases of tobacco in Kentucky. Kentucky Agr. Exp. Stat. Bull. **306**, 1930. — Valleau, W. D., and Johnson, E. M., The relation of some tobacco viruses to potato degeneration. Ebenda, Bull. **309**, 1930.

[2]) Smith, K. M., Studies on potato virus diseases. IV. Ann. Appl. Biol. 1929, **16**, 1.)Vgl. Plate I, Fig. 2 und 3, Plate II, Fig. 1.)

Ganz anders verhalten sich die Viruskombinationen, an denen G. A. nicht beteiligt ist. In keinem Fall können wir hier die Entstehung eines neuartigen Krankheitsbildes beobachten, vielmehr finden wir, daß die Gemische überwiegend ein intermediäres Verhalten zeigen, oder daß das eine Virus über das andere mehr oder minder ausgesprochen prävaliert. Das Gesagte veranschaulicht sehr gut unser Versuch VII. Bei der am 6. Oktober vorgenommenen Untersuchung wurde folgendes festgestellt:

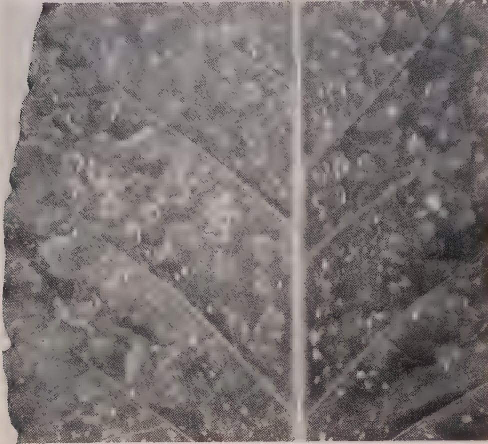


Abb. 15.
Kombination von R 77 und M 23 auf Samsun-Tabak (älteres Blatt). Die Symptome sind verstärkt. (Photographiert am 28. September.)

Vollkommen intermediär verhält sich das Gemisch aus M 23 und H 19. Bei M 23 waren auf den jüngeren Blättern breite kräftige Ringnekrosen entstanden. Diese Blätter zeigten eine deutliche Kräuselung. Bei H 19 zeigten die entsprechenden Blätter kleine, nur selten nekrotische Ring-Chlorosen. Die Blätter waren glatt. Beim Gemisch zeigten die entsprechenden Blätter ein genau intermediäres Verhalten, die Ring-Chlorosen waren stärker als bei H 19, jedoch schwächer als bei M 23. Die Blätter waren nur schwach gewellt.

Anders beim Gemisch H 19 + R 77. Hier waren zwischen dem Gemisch und R 77 keine sicheren Unterschiede nachweisbar: H 19 trat auf diesem Stadium überhaupt nicht in Erscheinung. R 77 dominierte über H 19 vollständig.

Wieder anders lagen die Dinge beim Gemisch M 23 + R 77. Hier kamen beide Viren in gleicher Weise zur Geltung, ohne daß jedoch eine Veränderung des Krankheitstypus zustande kam. Die Symptome hatten vielmehr ausgesprochenen Mischcharakter. Auch eine Verstärkung der Symptome konnte in dieser Versuchsserie nicht beobachtet werden. In einem andern Versuch zeigte sich beim gleichen Gemisch allerdings eine schwache Verstärkung insofern, als sich die Ringnekrosen nachträglich viel deutlicher abzeichneten als bei M 23 allein (Abb. 15).

Wir kommen also auf Grund der Kombinationsversuche zu dem Ergebnis, daß es zwei grundsätzlich verschiedene Typen von Mischinfektionen gibt.

Die drei Viren M 23, H 19 und R 77 müssen als verwandt betrachtet werden, sie stehen jedenfalls dem G. A.-Virus als ein besonderer Typ deutlich gegenüber.

Zusammenfassung.

Von deutschen Kartoffelherkünften wurden vier augenscheinlich selbständige Viren isoliert, die zu der Mosaikgruppe gehören und mechanisch übertragbar sind. Zwei davon, nämlich die als G. A. und M 23 bezeichneten, sind höchstwahrscheinlich mit den Viren Y und X von K. M. Smith identisch. Die beiden anderen sind neu und noch nicht beschrieben. Einen Überblick über einige wichtigere Unterscheidungsmerkmale der genannten Viren vermittelt die folgende Zusammenstellung:

	Übertragbarkeit durch *Myzus persicae*	Verhalten von Petunia	Bemerkungen
M 23	Nicht übertragbar	Nicht angreifbar	Vermutlich = X-Virus von K. M. Smith
R 77	Nicht übertragbar	Anfällig	Neues Virus
H 19	Nicht übertragbar	Anfällig	Neues Virus
G. A.	Übertragbar	?	Vermutlich = Y-Virus von K. M. Smith

M 23, H 19 und R 77 sind nah verwandte Viren. Dies ergibt sich aus ihrer Symptomatik, ihrer Epidemiologie, wie auch aus ihrem übereinstimmenden Verhalten, wenn sie mit dem G. A.-Virus kombiniert werden.

Das R 77-Virus erfuhr durch die Passage auf Datura und Petunia eine Abschwächung, die sich auch bei der zweiten Tabaknachimpfung noch nicht ganz verlor.

Biological Section, Academy of Sciences, Leningrad.

Virus diseases causing sterility.

By

Dontcho Kostoff.

With 7 Figures.

During the summer of 1930 and 1931, some plants of tobacco including pure species and species hybrids, showed certain definite abnormalities in the reproductive organs and a slightly unusual appearence in the whole habit. The development of the affected plants was suppressed and the leaves were slightly smaller and more numerous than in the normal plants. The flowers were more closely situated than usual and reduced in size $^1/_4$ to $^3/_4$ of the flower size oft the normal, non-affected sister plants (fig. 1a, 1b, 3a, 3b, 4a, 4b). The ovaries of the affected plants were swollen (fig. 1, 2, 3) and more or less prolonged (fig. 2). The styles were greatly reduced in length (fig. 1, 2 and 3). These anomalies were observed most frequently in *Nicotiana tabacum* L. var. Cuba, *Nicotiana tabacum* L. var. *macrophylla*, and few plants of *Nicotiana tabacum* L. var. *calycina*. The same symptomes were displayed by two hybrids of of the cross *N. tabacum* × *N. sylvestris*, by one hybrid of the cross *N. paniculata* × *N. Langsdorffii*, and by few plants of the back cross [(*N. rustica* × *N. tabacum*) × *N. tabacum*] × *N. tabacum*.

The affected tobacco plants from the pure lines as well as the hybrids were sterile. The viable pollen grains of the affected *N. tabacum* plants usually functioned. They germinated fairly well in agar medium. In one case about 30% were counted and in an other case about 25% were observed. They germinated on the styles of normal (non-affected *N. tabacum* plants. When normal *N. tabacum* plants were pollinated with pollen from affected *N. tabacum* plants, good seeds were obtained that germinated and developed into normal plants. In winter (1930 31) when the conditions in the green house were unfavorable (low temperature and insufficient light) the pollen of the affected plants did not function, while the non-affected sister plants of *N. tabacum* growing in the same conditions, produced still normally functioning pollen.

Affected plants were selfed as well as pollinated with pollen from normal plants, during all the four seasons of the year, but in both cases no seeds were obtained, i. e. the plants were completely sterile. Three

stigmas of an affected *N. tabacum* plant were examined in aceto-carmine preparations 5 hours after they had been pollinated with pollen from a normal *N. tabacum* plant and three other stigmas of the same affected *N. tabacum* plant were examined 5 hours after selfing. In both cases no germinated pollen was found.

Since certain plants that had branches with affected and non-affected flowers began, in a few days or weeks, to produce only affected flowers, it was suspected that the symptoms observed were due, perhaps, to certain virus disease, but not to hereditary causes or to temporarily physio-

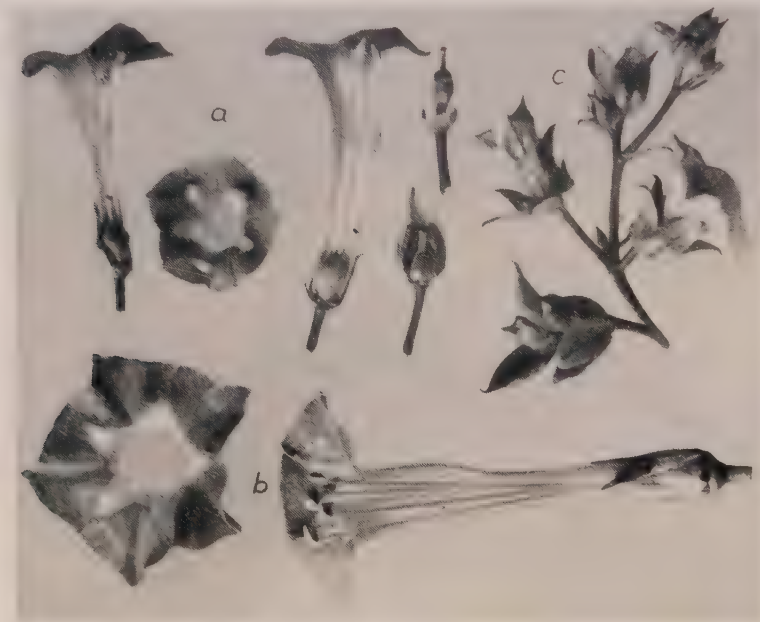


Fig. 1.
Tobacco flowers and ovaries. a, c: from infected; b: from normal plant.

logical disturbancies. In order to determine whether the symptoms described could be transmitted from the affected plants to the normal ones, the following graftings were made:

1. Shoots from normal *Nicotiana tabacum*, L. var. *macrophylla* and var. Cuba, *N. rustica* L. var. *humilis*, *Nicotiana Langsdorffii* Weinm., *Nicotiana glauca* Grah. and tomato Merveille des Marchés from Vilmorin were grafted on affected *N. tabacum* plants.

2. Shoots from the affected *N. tabacum* plants were grafted on non-affected. *N. tabacum*, *N. glauca*, *N. Langsdorffii*, *Datura Stramonium*, *D. Wrightii* and tomato plants.

N. tabacum and *N. Langsdorffii* normal shoots grafted on affected *N. tabacum* plants showed the symptoms in 20—40 days.

N. glauca normal shoots grafted on *N. tabacum* affected plants grew 5 months and formed only normal flowers without showing any symptoms.

Healthy *Solanum Lycopersicum* shoots grew very unsatisfactorily as scions on affected *N. tabacum* stocks. Twenty-five days after the grafting was made, one tomato scion was cut off and grafted back on a healty tomato plant of the same variety. About 20—35 days after this back-grafting was made the branches of the healty tomato plants showed gradually definite symptoms, first on those branches closely situated around the callus and then gradually on the others standing further away.



Fig. 2.
Ovaries (capsules) from artificially infected plants by grafting with virus that causes femal sterility. Nr. 1: the youngest. Nr. 12: the oldest.

Affected tomato plants had more brittle leaves than the normal tomato plants. The calyx of the flowers of the affected plants were enormously elongated (fig. 5a, 6) the flowers were sterile, the carpels of the very young fruits broke (fig. 5b), and the seeds of the more advanced in development did not grow further; in other words, the plant was made sterile.

The normal *N. tabacum* plants on which shoots from affected *N. tabacum* were grafted, showed the symptoms in 25—35 days, i. e. the new shoots formed by the stock, ended with affected flowers. The capsules when affected even in an advanced stage, produced seeds that did not germinate. Capsules from one affected branch are shown in fig. 2, being

attached at various stages, the one that is at the upper left side being the youngest (1) and the other at the lower right side being the oldest (12). The seeds from the three capsules that are shown in fig. 2, lower row, right, were planted separately. Only those from the oldest one (at the right side lower row) germinated and developed into normal plants.

N. glauca stocks on which affected *N. tabacum* shoots grew as scions, developed further normally and formed only normal flowers, even 18 months after the grafting was made. They could not be distinguished from the normal *N. glauca* plants on which no affected *N. tabacum* shorts were

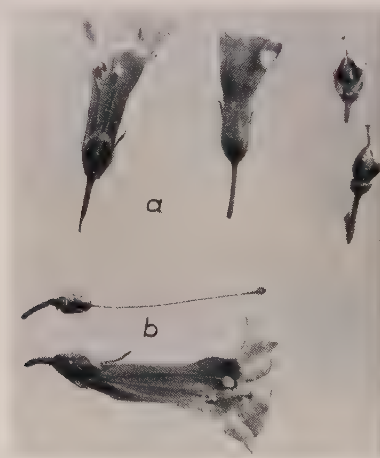


Fig. 3.
Nicotiana Langsdorffii flowers and ovaries.
a: from infected and b: from normal plants.

grafted. Cuttings from the *N. glauca* stock were made on which affected *N. tabacum* shoots grew 30 days and were rooted. The plants thus obtained grew also normally.

N. Langsdorffii plants, on which *N. tabacum* affected shoots were grafted, showed the symptoms in 25—35 days after the grafting.

Datura Stramonium plants on which shoots from affected *N. tabacum* were grafted, were very large plants and showed the symptoms in about 20—30 days. The calyx grew enormously long and broad, the corolla was reduced, the styles was shortened, and the ovary swollen. First those branches were affected which were situated closely around the graft callus, and then the infection spread gradually over the whole plant.

Three plants of *Datura Wrightii* and two plants of *Solanum Lycopersicum*, on which affected shoots from *N. tabacum* were grafted, did not display the symptoms in 45—50 days after the grafting was made:

in fact they grew very poorly. After about 50 days they were cut off. The affected *N. tabacum* shoots that were grafted on these plants grew very poorly too. Two of the scions growing on *D. Wrightii* and one growing on *S. Lycopersicum* died in about 25 days after the grafting was made; the others died off in about 35 days after the grafting was made.

N. glauca showed no symptoms, but it carried the agent producing the symptoms. Normal shoots from *N. tabacum*, *N. rustica*, and *N. Langsdorffii* were grafted on *N. glauca* plants: 1) on such that had for more



Fig. 4.
a: floral branches infected after the beginning of the flowering,
b: tobacco floral branches from nornal (healthy) plant.

than 20 days scions from affected *N. tabacum*, but the latter cut off about 25 days before the grafting of the normal shoots was made; 2) on such stocks, that had scions from affected *N. tabacum* plants still growing on one of the branches; 3) on three months old *N. glauca* rooted cuttings, that were taken from *N. glauca* stocks on which affected *N. tabacum* scions grew for about 25—35 days; and 4) on normal *N. glauca* plants on which affected shoots had not been grafted. In the first three cases, the *N. tabacum* as well as *N. Langsdorffii* and *N. rustica* normal scions showed the symptoms in about 18—40 days, depending on the rapidity of the scion growths. In the last (4) case no symptoms were observed. This experiment shows that *N. glauca* can be infected and can carry the cause

for female sterility and give it back to normal *N. tabacum*, *N. rustica*, and *N. Langsdorffii* plants without displaying the symptoms.

Permanent preparations from affected ovaries of *N. tabacum* and *Solanum Lycopersicum* were made. No bacteria and no fungi were found. It was assumed, therefore, that the symptoms described were due to a so called virus disease, which may be called "female sterility virus".

The symptoms caused by the "female sterility virus" were lately described by Ghimpu (1931) as teratological phenomena (s. plate XIV in Ghimpu's publication).



Abb. 5.
Flower (a) and fruits (b and c) from an infected tomato plant with virus that causes female sterility. Only fruit c has been artificially oppened.

Another case of virus disease causing sterility in plum trees which is due to degeneration of the ovules, was lately described by the author (Kostoff 1931).

Mosaic disease causes, occasionally, partial sterility in *N. tabacum* and in *N. triplex* (the triple fertile hybrid: *N. tabacum* × *[N. sylvestris* × *N. Rusbyi])*. The effect of the mosaic is however, differently expressed. When tobacco plants were very severely attacked by mosaic, so that not only the leaves, but also the flowers were badly deformed, the reduction division in the pollen mother cells (PMCs) of some floral buds was disturbed. The disturbancies were such that they led to formation of a relatively high percentage of abortive pollen and pollen larger than the normal grains having also a larger chromosome number than the normal.

Not only various buds of one and same branch can be affected in different degrees, but even various anthers of one and the same bud. In one flower I have found one anther that had about 8% abortive pollen, two anthers of the same flower had about 18%, and the other two about 25% abortive pollen. The highest percentage of abortive pollen that I have observed was about 48%—50%.

When the flowers were very severely attacked they set a much smaller amount of seeds than the normal plants. In one capsule from a



Abb. 6.
Branch with flowers from tomato, Merveille des Marchés, Vilmorin, infected with virus.

very severely attacked plant only 84 normal germinating seeds were found, while a normally developed capsule from a healthy plant has sometimes as many as 800 seeds.

Partial sterility caused by mosaic disease in tobacco, represents an interesting phenomenon from an evolutionary point of view, because the abnormalities in the reduction division caused by this disease lead occasionally to formation of large pollen grains, i. e. grains which contain more chromosomes than the haploid chromosome number of the plant. When generative nuclei with an increased chromosome number

(especially when such with 2n are formed) participate in the fertilization process, polyploid and heteroploid plants can be produced. Abnormal reduction division in Solanaceae plants caused by animal parasites was observed in two instances by Kostoff and Kendall (1929, 1930). The observations here reported show that in certain instances Virus disease may also play an important rôle in the evolutionary processes of the higher plants.

When the reproductive organs are very severely attacked by the disease, it is possible that it may even condition some mutative processes,



Abb. 7.
Healthy branch from the same variety as in fig. 6.

since it is known, that foreign agents of various nature are sometimes responsible for such processes. If the effect of the disease alone is not sufficient for conditioning such processes, it may participate in these processes as an additional factor together with some other or others, to which the plant organism is exposed. Some virus might have participated as an additional factor even in the production of chromosomal aberrations and gene mutations following grafting (Kostoff 1930) without manifesting its presence, although one cannot tell how much it has contributed, if it did at all in this case.

The abnormalities in the reduction division of the infected tobacco plants with mosaic are no doubt connected with the abnormal metabolic processes, that are caused by the virus. In studying the metabolism of the carbohydrates in normal and infected tobacco plants with mosaic, Dunlap (1931) stated that "Starch was apparently found to be more readily converted into simpler compounds in mosaic plants than in the healthy plants" and that "Sugar appeared to accumulate to a greater degree in the mosaic plants".

The potato is, besides tobacco, another classical object for studying virus diseases. In connection with the observations reported above, it seems

worth while mentioning that the reduction division in many varieties of the cultivated potato is abnormal in various degrees (Stow 1927, Bleier 1931, Heyn 1930) and that the abnormalities can be easily increased by the environmental conditions (Stow 1927). In fact, Stow thinks that "male sterility in potato plants is mainly caused by influence of higher temperature", but he adds that "it must be renembered that the abnormality of the division is variable according to different varieties. Generally speaking, in those varieties which have been hitherto cultivated in Hokkaido and are very susceptible to mosaic disease, the abnormal division occurs in higher degree than in the resistant ones of German origin".

Bleier (1931) interpreted the irregularities in the meiosis in potato by assuming the activity of a specific substance in the following way: „Nehmen wir an, daß alle diese Erscheinungen durch einen spezifischen Stoff, den wir nicht kennen, hervorgerufen werden, so ist es nicht unwahrscheinlich, daß bei höherer Temperatur dieser Stoff rascher und in größerer Menge entsteht als bei niedriger Temperatur. Dann hätte allerdings die Temperatur einen gewissen sekundären Einfluß auf das Auftreten und die Stärke der Störungen. Damit stimmen die Beobachtungstatsachen überein."

Temperature is also a factor influencing the activity of the virus in definite ways.

When one considers the observations we have made on tobacco plants infected by virus, here reported, with the observations made by Stow (1927), Bleier (1931) and others one raises unavoidably the following questions; Were not Bleier's specific substance a virus? Did not Stow work with virus-infected potatoes, displaying or not displaying symp-toms, just as *N. glauca* may carry the sterility virus without showing its presence and were not the results he obtained due to a resultant product of the components virus + temperature? If the case were such and if Bleier and Heyn worked with noninfected material, the differences in the results obtained, would be, as one might expect.

It would not be very astonishing, if future investigations show ed that the unknown specific substances, disturbing the reduction division in potatoes, of which Bleier writes, are virus diseases, independantly whether the plants show the symptoms or not. Bleier even assumes, „daß es sich um eine Autoregulation der Pflanze handelt" and E. Barton Wright and A. M'Bain (1931) showed, in studying the carbohydrate metabolism in normal and leaf-roll potatoes, that the sucrose is the sugar of translocation in healthy plants whilst carbohydrates are removed as hexose in leaf-roll potatoes. In other words, infected plants have certain metabolic processes that differ from the metabolic processes

in the normal plants and perhaps these differences are responsible for the abnormal meiotic processes. Such is the case at least in tobacco.

Since Bleier questioned Fukadu's opinion (1927), who assumes that the disturbance in the meiotic processes in potato are due to hybridization, as well as Stow's opinion who interpreted the anomalies in the reduction division in cultivated potato by the influence of the temperature, it would be of interest for further studies to find out whether some virus diseases interfere directly or indirectly with the meiotic processes in the cultivated potato, and if they do, in what degree?

Literature.

Bleier, H., 1931, Untersuchungen über die Sterilität der Kartoffel. Archiv für Pflanzenbau, 5, S. 545—560.

Dunlap, A. A., 1931, Carbohydrate variations accompanying the mosaic disease of tobacco. Amer. Journ. Bot., 18, p. 328—336.

Fukuda, Y., 1927, Bot. Mag. Tok., 41, p. 459. Quoted by Bleier.

Ghimpu, V., 1931, Contribution à la teratologie des *Nicotiana*. Rev. Pathol. Vegét. Agric., 18, p. 1—7.

Heyn, H., 1930, Wissen. Arch. Landw. A, 4, p. 123. Quoted by Bleier.

Kostoff, Dontcho, 1930, Chromosomal aberrants and gene mutations in *Nicotiana* obtained by grafting. Jour. Genet., 22, p. 399—418.

Kostoff, Dontcho, 1931, Studies on the sterility in certain fruit trees. Sci. pub. Bulgar. agric. Society, Nr, 28, Sofia, p. 1—63.

Kostoff, Dontcho and James Kendall, 1929, Irregular meiosis in *Lycium halimifolium* Mili. produced by gall mites. Journ. Genet., 21, p. 113—115.

Kostoff, Dontcho and James Kendall, 1930, Irregular meiosis in *Datura ferox* caused by *Tetranychus telarius*. Genetica, 12, p. 140—144.

Stow, Isamu, 1927, A Cytological study on pollen sterility in *Solanum tuberosum* L. Jap. Journ. Bot., 3, p. 217—237.

Wright, E., Barton and M'Bain, A., 1931 32, Studies in the physiology of the virus diseases of the potato: A comparison of the carbohydrate metabolism of normal with that of leaf-roll potatoes. Trans. Roy. Sic. Edinb., Vol. 57, No. 11.

Untersuchungen über Viruskrankheiten.

(11. Mitteilung)

Herausgegeben von E. Schaffnit.

Beiträge zur Kenntnis der Blattrollkrankheit der Kartoffel.

Von

E. Schaffnit und A. Jöhnssen.

Mit 6 Textabbildungen.

Nachdem die Fusarien als Erreger der Blattrollkrankheit verantwortlich machende Pilztheorie endgültig beiseite gelegt war, kamen zwei grundsätzlich verschiedene Lehrmeinungen über die Ursache der Krankheit auf. In Holland, England, Amerika und Japan [Quanjer (1916), Oortwijn Botjes (1920), Cotton (1921), Schultz und Folsom (1921), Kasai (1921), Quanjer (1922), Murphy (1923), Murphy und Mc Kay (1924, 1926), Whitehead (1924), Elze (1927), Smith (1929) u. a.[1])] hat man die Krankheit auf Grund der Feststellung, daß sie von Pflanze zu Pflanze ohne Nachweisbarkeit von Mikroorganismen übertragbar ist, in die Reihe der Viruskrankheiten eingeordnet, während die Mehrzahl der deutschen Forscher die Ursache der Krankheit in ökologisch bzw. „erblich" (Schander[2]) bedingten schweren Stoffwechselstörungen sieht. Diese Auffassung wurde von Anbeginn des Meinungsstreites von Schander und seinen Mitarbeitern und in neuerer Zeit vornehmlich von Merkenschlager vertreten; nach der Ansicht Schanders hat die Blattrollkrankheit „ihre Ursache in der Änderung des chemischen Gleichgewichts der Pflanze, die bedingt sein kann in der Erbanlage und hervorgerufen sein kann durch Wachstumsstörungen". Schweizer[3]), ein

---

[1]) Näheres über die umfangreiche, vorliegende Literatur über die Blattrollkrankheit findet man bei Esmarch, F., Die Blattrollkrankheit der Kartoffel. Monographien zum Pflanzenschutz, Heft 8, Berlin 1932.

[2]) Schander, R., Physiologische Untersuchungen an blattrollkranken Kartoffeln. Landw. Versuchsstationen 1927, 198—204.

[3]) Schweizer, G., 1. Zur Blattrollkrankheit der Kartoffelpflanze. Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft, 44, 551—561 (1926). — 2. Ein Beitrag zur Ätiologie und Therapie der Blattrollkrankheit bei der Kartoffelpflanze. Phytopathologische Zeitschrift 2, 537—591 (1930).

früherer Mitarbeiter Schanders, betont die Störungen des Eiweißhaushaltes, während Merkenschlager[1] die Ursache der Blattrollkrankheit in einer Wasserbilanzkrise zur Zeit der Vegetationshöhe sieht. Schander, der dem Komplex der Viruskrankheiten von Anfang an ablehnend gegenüber stand, und seinen Mitarbeitern ist es nicht gelungen, trotz jahrelang durchgeführter und wiederholter Versuche[2], die Blattrollkrankheit durch Insekten, Pfropfung und Preßsaftinjektion zu übertragen. Merkenschlager[3], der die Forschung durch seinen Ideenreichtum und durch die von ihm eingeschlagene Arbeitsrichtung außerordentlich belebt hat, lehnt ebenfalls, ohne Versuche zur Übertragung der Krankheit ausgeführt zu haben[4], die Virustheorie ab.

Die Nachprüfung der Frage „ob Viruscharakter oder nicht“ erschien daher in Rücksicht auf die Wichtigkeit des Problems und die ausländischen Kollegen dringend geboten. Zur experimentellen Klärung der Frage wurden Übertragungsversuche mit Blattläusen, Pfropfung und dem Saft kranker Pflanzen durchgeführt, deren Anlage und Ergebnisse in den folgenden Abschnitten wiedergegeben sind. Nachdem die ersten mehr orientierenden Übertragungsversuche ergeben hatten, daß aus Knollen herangezogene Pflanzen, über deren Vorgeschichte nichts Genaueres bekannt war, wenig Gewähr für zuverlässiges Versuchsmaterial bieten, wurde zunächst für die Gewinnung einwandfrei gesunden Pflanzenmaterials Sorge getragen. Dies geschah durch Sammeln von Samen gesunder Kartoffelstauden, Heranzucht, Beobachtung und Auswahl geeigneter Sämlinge. Aus Sortenanbauversuchen des Instituts wurden ferner Knollen von Kartoffelstauden mit Rollerscheinungen im Jahre 1929 geerntet und aus dem Nachbau solche Pflanzen ausgelesen und vermehrt, die nach unserer Ansicht brauchbares Infektionsmaterial für die gesunden Pflanzen liefern mußten. Mit dem großen Versuchsmaterial wurden dann 1930 und im besonderen 1931 die Versuche durchgeführt.

[1] Merkenschlager, F., Zur Pathologie der Blattrollkrankheit. 2. Mitteilung zur Biologie der Kartoffel. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft, 17, Heft 4, 345—376 (1929).

[2] Schander, R., 1. Bericht über die Tätigkeit des Instituts für Pflanzenkrankheiten, im Jahresbericht der Preußischen Versuchs- und Forschungsanstalten in Landsberg a. d. W. für 1923/24, Landw. Jahrbücher 60, 162—191 (1924). — 2. Desgleichen für 1924/25. Ebenda 62, 43—76 (1925). — 3. Desgleichen für 1925/26. Ebenda 64, Ergänzungsband I, 63—113 (1926). — 4. Desgleichen für 1926/27. Ebenda 66, Ergänzungsband I, 215—251 (1927). — 5. Desgleichen für 1927/28. Ebenda 68, Ergänzungsband I, 52—95 (1928). — 6. Desgleichen für 1928/29. Ebenda 69, Ergänzungsband, 226—258 (1929). — 7. Desgleichen für 1929/30. Ebenda 72, Ergänzungsband I, 62—91 (1930).

[3] Siehe Mitteilungen „Zur Biologie der Kartoffel“, herausgegeben von F. Merkenschlager. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft 17, 18, 19 und 20.

[4] Merkenschlager, F., Zur Pathologie der Blattrollkrankheit. 2. Mitteilung zur Biologie der Kartoffel. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft 17, Heft 4, 345—376 (1929).

Um ein klares Urteil über die gewonnenen Resultate zu erhalten, erfolgte die Zusammenstellung der Versuchsergebnisse erst nach der Beobachtung des ersten Nachbaues am Ende der zweiten Vegetationsperiode. Die für sämtliche Versuche benutzten Pflanzen wurden in sterilisiertem Boden und zur Sicherung gegen Fremdinfektion in einer Isolierkabine des Gewächshauses herangezogen. Die Kabine wurde periodisch mit einem insektiziden Stoff ausgeräuchert. Für die Weiterkultur nach erfolgter Infektion benutzten wir eine Einrichtung, von der zwar in früheren Veröffentlichungen



Abb. 1.

wiederholt die Rede war, die jedoch als billiger aber immerhin recht brauchbarer Ersatz für ein Virushaus, wie man es in Holland, England und Amerika benutzt, einige Beachtung verdienen dürfte und in Rücksicht auf wiederholt an uns gerichtete Anfragen hier etwas genauer beschrieben sei. Zu den Versuchen diente ein einfaches Gewächshaus mit seitlich herausnehmbaren Fenstern (Abb. 1), in dem ein 93 cm breiter Mitteltisch und ringsum laufende 51 cm breite Seitentische aus Zementplatten eingebaut sind, deren Platten 3 cm tiefe Rillen tragen und deren Anordnung aus Abb. 2 ersichtlich ist. In diese Rillen passen genau viereckige insektensichere Schutzzellen, deren Grundriß 40 : 40 cm und deren Höhe 55 bzw. 85 cm beträgt. Das Zellengerippe besteht aus Holzleisten und ist an drei Seiten und oben mit Voile bespannt, in die vierte Seitenwand ist zur Beobachtung der Versuchsobjekte eine Glasscheibe in den Holzrahmen eingekittet. Bevor die Versuchspflanze in die Voilezelle gebracht wird, werden sämtliche Tischrillen fast bis an den Rand mit Wasser gefüllt. Auf den zwischen den Rillen befindlichen Platten des Betontisches wird eine 3 bis 4 cm dicke Torfmullschicht ausgebreitet. Die Verbindung zwischen der wasserführenden Rille und der Torfmullschicht stellt ein auf zwei Seiten unter

der Torfschicht eingelegter, etwa 5 cm breiter und 20 cm langer Streifen Zellstoff her. Nach diesen Vorbereitungen wird die eingetopfte Versuchspflanze auf die Torfmullschicht gestellt und die Voilezelle darübergestülpt. Was soll durch diese Versuchsanordnung erreicht werden? Die über die Versuchspflanzen gezogenen und unten zusammengebundenen Insektenschutzhauben haben uns nicht voll befriedigt. Die Zuwanderung von

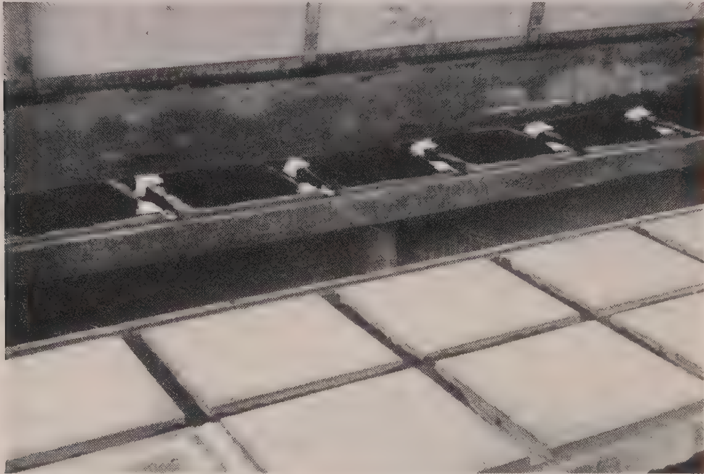


Abb. 2.

Läusen von unten her konnte bei ihrer Verwendung nicht immer verhindert werden. Bei unserer Versuchsanordnung bildet die in die Wasserrille eintauchende, unten ringsum mit einem Zinkblechstreifen versehene Voilezelle einen absoluten Schutz gegen von außen zuwandernde Insekten. Durch die mittels des Zellstoffstreifens geschaffene Saugvorrichtung wird ferner der Torfmull ständig feucht gehalten und auf diese Weise deckt die Pflanze durch den porösen Boden und die Öffnung des Blumentopfes ihren gesamten Wasserbedarf. Die Versuchspflanze kann auf diese Weise während der ganzen Beobachtungsdauer immer unter Verschluß gehalten werden. Damit ist auch einer unerwünschten Virusinfektion durch Insekten von außen her durch das nicht notwendige Entfernen der Haube oder der Zelle zum Gießen der Versuchspflanze vorgebeugt.

Übertragung durch Blattläuse.

Im Frühjahr 1931 wurden auf gesunden Kartoffelsämlingen gesunde Exemplare der Blattlausart *Myzus persicae* vermehrt. Aus dieser Zucht wurden Blattläuse auf stark blattrollkranke Pflanzen aus mehrjährigem blattrollkranken Nachbau der Sorte Citrus am 22. Juni 1931 übertragen und nach vier Tagen von den kranken Pflanzen auf gesunde Kartoffel-

pflanzen übergesetzt. Das gesunde Pflanzenmaterial stammte zum Teil aus Knollen der Sorte Citrus (Originalpflanzgut), zum Teil wurden Sämlinge verschiedener Abstammung benutzt. Zur Kontrolle wurden jeweils die Knollen in Teilstücke zerlegt bzw. die Sämlinge vegetativ vermehrt und auf die so herangezogenen Kontrollpflanzen gleichzeitig gesunde Läuse aus der Ausgangszucht übertragen. Auf jede Versuchspflanze wurden 12 Blattläuse übergeführt, die nach 14 Tagen mittels „Exodin" abgetötet wurden. Sämtliche in diesen und den übrigen Versuchen benutzten Pflanzen wurden in der oben beschriebenen Weise herangezogen, infiziert und weiter behandelt. Die Knollen wurden topfweise getrennt geerntet und zur Wei-



Abb. 3.

terbeobachtung im Frühjahr 1932 ausgelegt. Von den mit Läusen von den blattrollkranken Stauden beschickten Pflanzen zeigten 37,5 % im Infektionsjahr die primäre Form der Blattrollkrankheit. Die Beobachtung des Nachbaues ergab, daß die Zahl der infizierten Pflanzen aber in Wirklichkeit größer war, denn im Jahre 1932 traten an 62,5 % der Pflanzen die Symptome der sekundären Form der Erkrankung in Erscheinung. Die primären Krankheitssymptome waren also an einigen Pflanzen nicht aufgetreten und ein Teil dieser symptomlosen Träger zeigte im ersten Nachbau die sekundären Krankheitserscheinungen nur in schwächerer Ausprägung. Sämtliche Kontrollpflanzen sind im Infektionsjahre und im Nachbau gesund geblieben.

Saftübertragungsversuche.

Für diese Art der künstlichen Übertragung wurden verschiedene Methoden angewandt. Aus stark blattrollkranken Pflanzen gewonnener Preßsaft wurde in einer Versuchsreihe in die Blätter gesunder Kartoffelsämlinge mittels Rekordspitze injiziert. Da diese für die Infektion von Tabak sehr geeignete Methode aber bei der Kartoffel nur das Einbringen geringer Saftmengen gestattet, wurde gleichzeitig eine weitere Reihe von Kartoffelsämlingen wie in früheren Versuchen[1] in der Weise infiziert, daß Gewebebrei aus stark blattrollkranken Pflanzen in Schnittwunden am Stengel und an den Blattstielen eingebracht wurde. In einer dritten Versuchsreihe endlich wurden teils Sämlinge, deren Wurzeln vorher zurückgeschnitten worden waren, teils von Sämlingen gewonnene Stecklinge in den Saft blattrollkranker Kartoffeln eingestellt und nach 4 Tagen in Tontöpfe mit sterilisiertem Boden gepflanzt.

Zur Kontrolle wurden vor der Infektion alle Versuchspflanzen durch Stecklinge vermehrt. Die Kontrollpflanzen wurden in der gleichen Weise mit Saft bzw. Gewebebrei aus gesunden Pflanzen behandelt. Keine der vorgenannten Methoden hat zu einem Erfolg geführt. Die Blattrollkrankheit ist in keiner Versuchsreihe aufgetreten. Da einige Stecklinge keine Knollen gebildet hatten, war die restlose Prüfung des Nachbaues leider nicht möglich. Indessen wurden bei keiner der nachgebauten infizierten Pflanzen Anhaltspunkte für eine gelungene Infektion gefunden.

Die Übertragung durch Pfropfung.

Diese Übertragungsmethode wurde in Form der englischen Kopulation mit Gegenzungen angewandt. In einer Versuchsreihe diente die Unterlage als Infektionsquelle, es wurden also gesunde Reiser aufgepfropft; in den meisten Fällen wurde aber bei der Pfropfung in umgekehrter Weise verfahren, d. h. es wurden auf gesunde Kartoffelpflanzen Reiser von blattrollkranken Kartoffelstauden aufgesetzt. Dieser Pfropfkombination wurde aus dem Grunde der Vorzug gegeben, weil hierbei allein die Nachprüfung der Ergebnisse durch den Nachbau der geernteten Knollen möglich ist.

Das in diesen Übertragungsversuchen verwendete kranke Material stammte z. T. von hiesigem, mehrjährigem blattrollkranken Nachbau der Sorte Citrus, z. T. wurden die zum Aufsetzen verwendeten Reiser im Freiland von Kartoffelstauden mit Rollsymptomen gesammelt. Als gesunde Pflanzen dienten Kartoffelsämlinge verschiedener Abstammung. Bei den Pfropfungen auf gesunder Unterlage wurden die Sämlinge zur Kontrolle vor der Pfropfung durch Stecklinge vermehrt.

---

[1]) Vergl. E. Schaffnit und W. Müller, Untersuchungen über Viruskrankheiten: Wechselseitige Übertragung innerhalb der Familie der Solanaceen. Phytopath. Zeitschr., Bd. III, 1931, S. 105.

Der Prozentsatz der positiven Infektionen war verschieden, je nachdem, ob die Reiser von Freilandstauden stammten oder ob als Infektionsquelle der mehrjährige blattrollkranke Nachbau der Sorte Citrus diente, bzw. ob die zu prüfende Pflanze Reis oder Unterlage war. So zeigten bei



Abb. 4.

der Pfropfkombination krank + gesund nur 60% der aufgesetzten Reiser die Symptome der Blattrollkrankheit. Möglicherweise war die Zahl der gelungenen Infektionen in dieser Versuchsreihe größer. Eine Nachprüfung



Abb. 5.

im Wege der Weiterübertragung konnte aus technischen Gründen nicht vorgenommen werden. Eine weitaus größere Zahl positiver Infektionen erbrachten die reziproken Pfropfungen bei Benutzung der gleichen Infektionsquelle (Citrus, mehrjähriger blattrollkranker Nachbau). Von den

16 gepfropften Sämlingen erkrankten 15, und zwar ließen diese größtenteils schon im Infektionsjahre die Symptome der sekundären Form der Blattrollkrankheit erkennen. Abb. 3 zeigt vier Sämlinge mit den Reisern der stark blattrollkranken Citrus, fünf Wochen nach der Pfropfung aufgenommen, Abb. 4 in derselben Anordnung die gleichzeitig mit der Pfropfung hergestellten vegetativen Vermehrungen dieser Sämlinge ungepfropft. Abb. 5 gibt das Ergebnis der Prüfung des ersten Nachbaues



Abb. 6.

im Jahre 1932 wieder (links Nachbau der Kontrolle, rechts Nachbau des gepfropften Sämlings).

Die im Jahre 1932 unter Benutzung der gleichen Infektionsquelle angelegten Pfropfungen zeigten bereits im Infektionsjahre ausnahmslos in schwächerer und stärkerer Ausprägung die Symptome der Blattrollkrankheit. Abb. 6 zeigt rechts einen gepfropften Sämling, links die Kontrolle in der ungepfropften, zeitig vor der Pfropfung angelegten vegetativen Vermehrung desselben Sämlings. (Tag der Pfropfung: 13. Juni 1932, Tag der photographischen Aufnahme: 29. Juli 1932.) Auch in diesem Versuch sind sämtliche Kontrollpflanzen, wie auch die unter Verwendung gesunder Unterlagen und gesunder Reiser hergestellten Pfropfungen gesund geblieben.

In der unter Verwendung von Reisern von Freilandstauden mit Rollsymptomen angelegten Versuchsreihe zeigten nur 43 % der Pfropfungen die Symptome der Blattrollkrankheit, 19 % der Pflanzen erkrankten an Strichelnekrose, die übrigen Pfropfungen (= 38 %) blieben dagegen wie die ungepfropften Kontrollen gesund. Im Nachbau verhielten sich die gepfropften Pflanzen in gleicher Weise wie im Infektionsjahre.

Das Ergebnis dieser letzten Versuchsreihe legte die Vermutung nahe, daß die Rollerscheinungen an einigen der Freilandpflanzen, von denen Reiser zu Pfropfzwecken genommen waren, auf andere Ursachen zurückzuführen seien, vielleicht ökologisch bedingt sein könnten. Der Frage nach dem Vorkommen und Verhalten derart bedingten Blattrollens ist dann im letzten Jahre weiter nachgegangen worden. Von einem im Vorgebirge bei Bonn gelegenen Kartoffelschlage, auf dem die Pflanzen in der zweiten Junihälfte ziemlich einheitlich und stark Blattrollen zeigten, wurden sowohl einzelne Triebe und ganze Stauden als auch nur Wipfel stark rollender Kartoffelpflanzen entnommen. Die Triebe bzw. Stauden wurden dann teils nach Reinigung der Wurzeln im Freien in Gartenerde, teils daneben in Tontöpfe unter Benutzung der Ackererde, in der die Pflanzen herangewachsen waren, eingepflanzt. Die entnommenen Reiser wurden auf Kartoffelsämlinge gepfropft, die zur weiteren Beobachtung im Gewächshaus aufbewahrt wurden. Von den 10 Pfropfungen ist nur eine an Blattrollkrankheit erkrankt. Die Erkrankung dieser Pflanze war vorauszusehen, da schon bei der Herstellung der Pfropfungen in diesem Falle das Reis mit auffallend gelblich-grünem Farbton des Laubes und silbernem Schimmer der Blattunterseiten im Versuchsprotokoll als „höchstwahrscheinlich von einer virusblattrollkranken Staude stammend“ gekennzeichnet wurde. An allen übrigen aufgesetzten Reisern sind im Laufe des Sommers die Rollerscheinungen zurückgegangen, an einigen Pfropfreisern war schon in den ersten Augusttagen kein Blattrollen mehr festzustellen.

An den in Gartenerde im Freiland ausgepflanzten Kartoffeltrieben bzw. -stauden gingen die Rollerscheinungen ebenfalls sehr schnell zurück und waren bereits nach einem Monat gänzlich verschwunden. Die Triebe dieser Pflanzen hatten am 10. August eine Länge von 80—95 cm erreicht, während zu dem gleichen Zeitpunkt die in der Erde vom ursprünglichen Standort kultivierten Stauden nur Triebe von höchstens 30 cm Länge aufwiesen und das Rollen der Blätter an diesen Pflanzen während der Vegetationsperiode nur unwesentlich zurückging.

Das auf dem erwähnten Kartoffelacker beobachtete Rollen ist, nach dem Ergebnis dieser Versuche zu urteilen, nur in wenigen Fällen durch das Blattrollvirus bedingt gewesen. Die beobachteten reversiblen Rollerscheinungen dürften nach unserer Ansicht weniger durch ungünstige Witterungsbedingungen als durch Bodeneinflüsse ausgelöst worden sein.

Schlußbetrachtung.

Die von uns in den Übertragungsversuchen mit der Blattrollkrankheit der Kartoffel gewonnenen Resultate bestätigen die Ergebnisse der Forscher des Auslands (Holland, England, Amerika und Japan), nämlich daß die Blattrollkrankheit von Pflanze zu Pflanze übertragbar ist. Es ist gelungen, die Blattrollkrankheit durch Blattläuse und durch Pfropfung zu übertragen, dagegen sind alle Versuche, die Krankheit durch den Preßsaft kranker Pflanzen zu übertragen, ohne Erfolg geblieben.

Die Übertragungsversuche haben den Beweis dafür erbracht, daß sich die Blattrollkrankheit in Deutschland nicht anders verhält als in den übrigen Ländern. Darüber hinaus haben die Versuche Anhaltspunkte für die Annahme des Vorkommens eines ökologisch bedingten Blattrollens bei der Kartoffel ergeben. Die Meinung von Merkenschlager, daß der Virusinfektion primäre Bedeutung wohl nicht zukommen könne, ist also nicht berechtigt, und die Tatsache, daß der Viruscharakter der Blattrollkrankheit der Kartoffel von Merkenschlager und anderen Autoren sogar in Zweifel gezogen wird, ist um so weniger verständlich, als von den meisten Vertretern dieser Ansicht Versuche zur Übertragung der Krankheit nicht angestellt worden sind. Aus diesem Grunde muß auch die Frage offen bleiben, inwieweit in den von den Vertretern der physiologisch begründeten Abbautheorie durchgeführten Untersuchungen das verwendete kranke Pflanzenmaterial dem einen oder dem anderen Typ von Blattrollkrankheit zugerechnet werden muß.

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik
Braunschweig-Gliesmarode.
(Leitung: Prof. Dr. G. Gaßner.)
(Arbeitsgemeinschaft Biologische Reichsanstalt — Botanisches Institut Braunschweig.)

Ueber den Einfluß von Temperatur und Licht auf die Keimung der Uredosporen von *Puccinia glumarum* f. sp. *tritici* (Schmidt) Erikss. et Henn.

Von

W. Stroede.

Mit 3 Textabbildungen.

I. Einleitung.

Die Untersuchungen zu den folgenden Ausführungen wurden auf Anregung von Herrn Prof. Dr. Gaßner in den Monaten April bis Juli 1932 im Institut für Landwirtschaftliche Botanik in Braunschweig-Gliesmarode durchgeführt. Sie sind gewissermaßen als Fortsetzung der in dieser Zeitschrift Bd. III, Heft 3, 1931, S. 231, erschienenen Arbeit von Stock (15), „Untersuchungen über Keimung und Keimschlauchwachstum der Uredosporen einiger Getreideroste" gedacht.

Die Gelbrosturedosporen wurden von Stock in seine Untersuchungen nicht mit einbezogen, weil das Keimverhalten der Uredosporen von *Puccinia glumarum* von dem der übrigen Rostarten wesentlich verschieden ist und auch zeitlich anders verläuft, „so daß die gleichzeitige Durchführung der Versuche mit *Puccinia glumarum* in gemeinsamen Versuchsreihen mit den Uredosporen der anderen Rostarten nicht möglich ist" (Stock). Die dadurch entstandene Lücke in Stock's Arbeit soll in den hier folgenden Ausführungen wenigstens insoweit ausgefüllt werden, als das Keimverhalten der Uredosporen von *Puccinia glumarum* in seiner Abhängigkeit von zwei wichtigen Umweltfaktoren, Temperatur und Licht, untersucht wurde.

Über die Keimung der *Puccinia-glumarum*-Uredosporen liegen im übrigen bereits Untersuchungen von Beauvérie (1)., Becker (2), Eriksson und Henning (3), Gaßner und Straib (6), Johnson (8), Lang (9), Mains (10), Raeder und Bever (13), Schaffnit (14), Wilhelm (16) u. a. vor. Die Ergebnisse einiger von ihnen werden später, soweit erforderlich, zum Vergleich herangezogen werden.

II. Versuchsmaterial.

Zu allen Untersuchungen wurden Uredosporen von *Puccinia glumarum* f. sp. *tritici* (Schmidt) Eriksson et Henning, und zwar im allgemeinen Biotyp 4 (nach Gaßner und Straib, 7) benutzt. Das Material war im Gewächshaus möglichst bei einer Temperatur von etwa 15° C herangezogen worden; jedoch ließ sich diese Temperatur während einer Reihe heißer Tage nicht immer wünschenswert konstant halten und stieg mitunter auf etwa 20°.

Fast alle Autoren, die sich mit dem Keimverhalten von *Uredo glumarum* beschäftigen, berichten über schlechtes, oder wenigstens sehr „launenhaftes" Auskeimen der Uredosporen (Eriksson u. Henning, 3). Verschiedene Faktoren müssen hierfür mehr oder weniger als Ursache angesehen werden. So mögen solche Beobachtungen zum großen Teil daran liegen, daß die Wirtspflanzen, die für die Sporenanzuchten benutzt wurden, nicht unter geeigneten Bedingungen gehalten werden konnten, oder, was ebenfalls häufig der Fall war, daß die Sporen direkt von Freilandpflanzen gewonnen wurden. Da ungleichmäßiges Auskeimen von Gelbrosturedosporen auch durch Verschiedenheiten im Reifezustand der Sporen veranlaßt werden kann (Schaffnit, 14), mußte darauf geachtet werden, daß zu allen Versuchen möglichst gleichaltriges und vollausgereiftes Sporenmaterial verwendet wurde. Verschiedentlich (Schaffnit, 14; Melhus und Durrel, 11) wird darauf hingewiesen, daß auch die äußeren Bedingungen wie Temperatur, Licht, Feuchtigkeit usw., unter denen sich das Sporenmaterial vor der Aussaat befindet, sowie der Entwicklungszustand der Wirtspflanzen auf die Keimfähigkeit und Keimungsgeschwindigkeit fördernd oder hinderlich einwirken und daß es dadurch zu Störungen im normalen Keimverlauf der Uredosporen kommen kann. Aus diesem Grunde wurde auch hier auf größtmögliche Konstanz der Versuchsbedingungen gesehen und nur Material verwendet, das unter möglichst geeigneten Bedingungen herangezogen worden war.

Trotz Beachtung aller dieser Vorsichtsmaßregeln war es allerdings auch mir nicht immer möglich, alle Schwankungen im Verlauf der Keimversuche zu umgehen. Um dennoch vergleichbare Werte zu erhalten, wurde, wie auch Stock es tat, stets eine möglichst große Sporenzahl untersucht und die gefundenen Werte auf Kontrollversuche bezogen, die zu allen Versuchen gleichzeitig, unter optimalen Keimungsbedingungen, durchgeführt wurden.

III. Methodik.

Die Untersuchungen wurden nicht wie bei Stock im hängenden Tropfen in Ringkammern vorgenommen, sondern auf 2%igem Agar-Agar, der, mit destilliertem Wasser angesetzt, in dünner Schicht auf Petrischalen ausgegossen wurde. Gegenüber der Versuchsmethodik im hän-

genden Tropfen hat die Agarplattenmethode vor allem den Vorteil, daß die Versuchs- und Beobachtungsflächen hier weit größere sind als im hängenden Tropfen; außerdem wird man bei stärkerer Keimung nicht in der Übersicht gehindert, da die Keimschläuche bei den Agarplatten auf dem Agar entlangwachsen, bei Keimung im hängenden Tropfen aber vom Wasser fort, sich in den Raum erheben und dadurch die Übersicht im Gesichtsfeld stark beeinträchtigen.

Das Besäen der Agarplatten geschah in der Weise, daß die unter gleichen Bedingungen herangezogenen Sporen vorsichtig von den Blättern auf die Agarplatten abgeklopft wurden. Durch darauffolgende seitliche Erschütterung der Platten ließ sich verhindern, daß die Sporen in großen, zusammengeballten Klumpen lagen, wodurch in jedem Falle ungleichmäßiges Auskeimen der Sporen bewirkt wird. Auf jeder Platte wurden dann nach 3, 6, 9, 12, 24 usw. Stunden 10 Gesichtsfelder mit etwa 600—700 Sporen ausgezählt. Um brauchbare Durchschnittswerte zu erhalten, wurden für jeden einzelnen Versuch mindestens drei Schalen mit Sporen angesetzt. Außerdem wurde jeder Versuch wenigstens einmal, und falls dann noch keine eindeutigen Ergebnisse zu erkennen waren, ein zweites bzw. drittes Mal wiederholt. Aus den Ergebnissen der einzelnen Versuchsreihen wurden die Mittelwerte errechnet.

IV. Einfluß der Temperatur (Dunkelversuche).

In der Literatur liegen über den Einfluß der Temperatur auf die Keimung der Uredosporen von *Puccinia glumarum* vor allem von Metha (12) und Wilhelm (16) genauere Angaben vor. Ersterer fand als niedrigste Keimungstemperatur 2—3° C. Bei 22—23° C betrug die Keimung nur noch 5%; als höchstzulässige Temperatur muß nach seinen Untersuchungen 29° C angesehen werden. Wilhelm gibt an, daß die Keimung der Gelbrosturedosporen zwischen 10° und 20° C eine gleich gute ist. Zwischen 10° und 5° läßt diese stark nach, um unter 5° C auf wenige Prozente herabzusinken. Bei Temperaturen über 20° konnte er ebenfalls starke Herabsetzung des Keimvermögens und bei 28° vollständiges Aufhören desselben feststellen. J. Becker (2) konnte durch ihre Versuche nachweisen, daß die Gelbrosturedosporen warmen Temperaturen gegenüber weit empfindlicher sind als kälteren.

Für meine Untersuchungen über das Keimverhalten der Gelbrosturedosporen standen mir die folgenden konstanten Temperaturen zur Verfügung: 0—1°, 2—3°, 11—12°, 16,5—17,5°, 19—20°, 23°, 25° und 26° C. Die Versuche wurden bei Dunkelheit durchgeführt und die Schalen nur zum Zweck der Ablesung in Licht gebracht. Für die Temperaturen von 0—1° und 2—3° C fand diese in einem Kühlraum statt, dessen Temperatur auch während der Kontrolle nie über 2° C gestiegen war. In allen übrigen Fällen fand die Kontrolle bei Zimmertemperatur statt.

In Tabelle 1 und 2 sind zwei Reihen von Versuchsergebnissen der Keimprüfungen wiedergegeben.

Tabelle 1.
Keimung der Uredosporen von *Puccinia glumarum* bei den untersuchten Temperaturen.

Ablesung nach	0—1° %	2-3° %	11—12° %	16,5-17,5° %	19—20° %	23° %	25° %	26° %
6 Stunden	0	< 1	95—100	35	Spuren	0	0	0
9 „	< 1	5,1	desgl.	47	14	0	0	0
12 „	< 1	8,0		71	31,5	0	0	0
24 „	1,7	11,7		92	55,3	0	Spuren	0
36 „	—	—		—	—	28	< 1	0
48 „	1,9	14,2		95—100	89,4	44,1	desgl.	0
72 „	desgl.	desgl.		desgl.	ca. 95	67	„	0

Tabelle 2.

Ablesung nach	0—1° %	2—3° %	11—12° %	16,5-17,5° %	19—20° %	23° %	25° %	26° %
6 Stunden	0	0	100	29	ca. 10	0	0	0
9 „	0	Spuren	desgl.	31	31	0	0	0
12 „	Spuren	Spuren		33	53,3	0	0	0
24 „	Spuren	7,7		86	90	0	Spuren	0
36 „	3,1	18,1		ca. 90	97	57,8	desgl.	0
48 „	desgl.	desgl.		93	desgl.	73,5	„	0
72 „	„	„		100	„	desgl.	„	0

Anmerkung: Zu jedem Versuch wurden Kontrollbeobachtungen bei 11° C durchgeführt und nur solche Keimversuche ausgewertet, bei denen diese Kontrollen Keimungen von ca. 100 % ergaben.

Bei 0—1° C erreichen die Durchschnittswerte der Keimung nach 24—48 Stunden das Maximum mit etwa 2—2,5%. Der in Tabelle 2 wiedergegebene Wert von 3,1% stellt ein besonders günstiges Ergebnis dar. Nach Verlauf von 48 Stunden treten neue Keimungen nicht mehr ein.

Bei 2—3° C sind die Keimprozente bereits deutlich höher und können mitunter bis über 15% gehen. In Ausnahmefällen wurden aber auch bei dieser Temperatur Keimungen von nur 7 oder gar 3% erreicht.

Gelegentliche Beobachtungen zeigten, daß, sobald die Temperatur zeitweilig über 3° C herausgeht, auch die Keimprozente stark zunehmen. So sind in einem Versuch, bei dem die Temperatur in den ersten 12 Stunden größtenteils zwischen 3° und 5° C lag, nach 9 Stunden bereits 47% der Sporen ausgekeimt. Nach weiteren 24 Stunden ist die Keimung auf 56% angestiegen und hat damit ihr Maximum erreicht.

Bei 11° C ist das Keimungsoptimum erreicht. Die Sporen sind stets nach 6 Stunden vollzählig ausgekeimt und der gelbgefärbte, grobkörnige Sporeninhalt ist bereits in die Keimschläuche übergetreten, so

daß die Sporen selbst ein durchsichtiges Aussehen haben. Bei dieser Temperatur zeigen alle Wiederholungen dasselbe eindeutige Ergebnis. Auch bei 12° und 12,5° C ist das Resultat noch das gleiche, wie gelegentliche Beobachtungen zeigten.

Bei einem Versuch, bei dem die Temperatur zwischen 15° und 17° C lag, ergab sich, daß in den 6 ersten Stunden nur noch 58% der Sporen auskeimten; hier tritt also bereits eine deutliche Verzögerung der Keimung ein.

Noch deutlicher wird diese bei 16,5—17,5° C. So zeigen die in Tabelle 1 und 2 wiedergegebenen Versuchsergebnisse, daß in einem günstigen Falle nach 6 Stunden nur noch 35%ige Sporenkeimung gefunden wurde; in dem weniger günstigen Falle in Tabelle 2 waren in derselben Zeit erst 29% der Sporen ausgekeimt. In anderen Fällen war die Verzögerung noch deutlicher, indem nach 6 Stunden 9%, nach 12 Stunden 14% und erst nach 72 Stunden ca. 95—100%ige Keimung erreicht war.

Bei 19—20° ist die Keimungsverzögerung bereits so stark, daß in den ersten 6 Stunden bestenfalls 10—15% aller Sporen zur Keimung kommen. Hundertprozentige Keimung war mitunter nach 36 Stunden erreicht; gewöhnlich können aber, wie in dem in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuch, erst nach 48—72stündiger Keimung die Sporen als vollzählig ausgekeimt angesehen werden.

Übereinstimmend zeigen alle bei 23° C angesetzten Keimversuche, daß wenigstens 24 Stunden vergehen mußten, ehe überhaupt Spuren von Keimung zu erkennen waren. Erst nach dieser Zeit begann diese stärker einzusetzen, doch wurde 100%ige Keimung in keinem Falle mehr beobachtet; höchstens ging diese bis zu annähernd 75%.

Zu den in Tabelle 1 und 2 wiedergegebenen Versuchen bei 25° und 26° C ist zu sagen, daß sie trotz aller Wiederholungen fast jedesmal gleiche Resultate hatten. Während bei 25° immer nur noch eine ganz geringe Zahl von Sporen (noch nicht 1%) auskeimten, ließen sich bei 26° C überhaupt keine Keimungen mehr feststellen. An den Sporen war es nicht einmal mehr zum Hervortreten der Keimporen gekommen, und an ihrer zusammengeschrumpften Form und der grauen Farbe konnte man erkennen, daß sie ihre Lebensfähigkeit eingebüßt hatten.

Als Gesamtergebnis der beschriebenen Keimversuche (vgl. Abb. 1) läßt sich abschließend feststellen: Bei 0° C und darunter findet überhaupt keine nennenswerte Keimung der Uredosporen von *Puccinia glumarum* statt. Dicht über 0° setzen die Keimungen aber bereits ein, doch kommen nicht mehr als wenige Prozente der Sporen zur Keimung. Zwischen 3 und 11° steigt die Kurve ziemlich steil zum Höhepunkt an, der von 11—20°, wenigstens bezüglich der Höhe der schließlich erreichten Keimprozente, fast gleich bleibt oder doch nur sehr gering abfällt. Über 20° ist der Ab-

fall ziemlich steil, von 23—26° C fast senkrecht. Bei 26° wird der Nullpunkt wieder erreicht.

Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Wilhelm (16) insofern überein, als er ebenfalls fand, daß die schließlichen Keimprozente der Uredosporen von *Puccinia glumarum* zwischen 10° und 20° C fast gleich sind. Seine Angabe, daß bei Temperaturen über 20° starke Herabsetzung der Keimfähigkeit eintritt, konnte ich durch meine Untersuchungen eben-

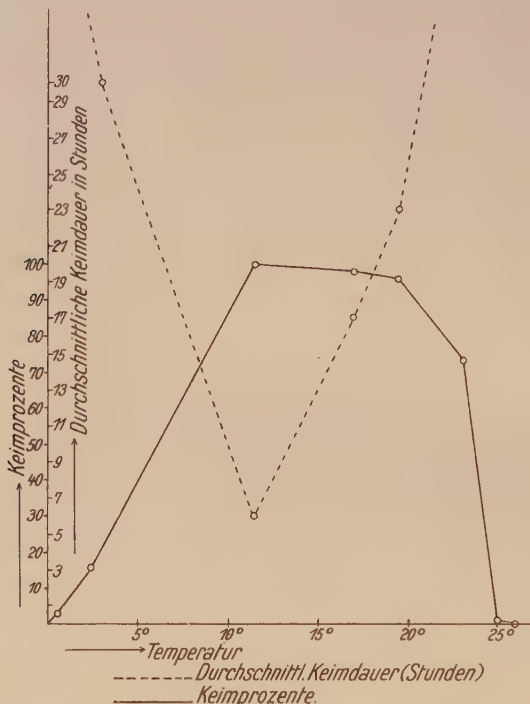


Abb. 1.
Keimungsoptimum für *Uredo glumarum* (errechnet aus Tabelle I und II).

falls bestätigen. In einigen Punkten finden sich aber Unterschiede in den Ergebnissen Wilhelm's und den hier vorliegenden. Als oberste Grenze der Keimfähigkeit findet Wilhelm 28° C, während nach meinen Untersuchungen diese schon bei 25° liegen dürfte, da bei 26° C bereits keine Sporen mehr zur Keimung gelangten.

Eine zweite Unstimmigkeit findet sich im folgenden: Wilhelm gibt an, daß er sowohl bei seinen vergleichenden Versuchen als auch bei seinen zahlreichen sonstigen Keimversuchen am Weizengelbrost „niemals ein Beginn der Keimung vor 10 Stunden nach der Aussaat" der Sporen feststellen konnte. Dazu ist folgendes zu bemerken: Wie im vorhergehenden dargelegt werden konnte, finden zwar bei den maximalen Keimungstemperaturen wie 0—1°, 2—3°, 23° und 25° C in den ersten 10 und mehr

Stunden keine Keimungen statt, doch konnte mit größter Sicherheit festgestellt werden, daß in allen übrigen Fällen die Keimung bereits nach 6 Stunden mehr oder weniger stark eingesetzt hat. Ferner schreibt Wilhelm: „Der Abschluß der Keimung von ungefähr 100% der Sporen war in keinem Falle vor 15 Stunden nach der Aussaat zu beobachten.“ Diese Angabe muß ebenfalls, namentlich für Temperaturen um 11° C herum, bestritten werden. Bei 11—12° C wird die 100%ige Keimung bereits in etwa 6 Stunden erlangt, was mit den Angaben Schaffnit's übereinstimmt. Von den Angaben Metha's weichen meine Befunde nur insofern ab, als von ihm die höchstzulässige Keimungstemperatur mit 29° C angegeben wird, ein Wert, der 4 Grad über dem von mir festgestellten Maximalwert liegt.

Zur Beurteilung des wirklichen Keimungsoptimums der *Puccinia-glumarum*-Uredosporen genügt es naturgemäß nicht, allein die Temperatur anzugeben, bei der 100%ige Keimung stattfindet; vielmehr stellt die durchschnittliche Keimdauer ein nicht weniger wichtiges Kriterium dar. Diese läßt sich aus den Werten in Tabelle 1 und 2 leicht rechnerisch ermitteln (vgl. Gaßner, 4) und stellt sich als Quotient aller Produkte aus Keim- (Prozenten) und Stundenzahl (von Beginn bis Ende des Versuches) und der Summe der im ganzen erreichten Keimprozente dar. In Abb. 1 ist die so errechnete durchschnittliche Keimgeschwindigkeit zusammen mit den Keimprozenten in ein Koordinatensystem (mit doppelter Abszisse eingetragen. Aus dieser Abbildung ist nun leicht zu erkennen, daß das genaue Keimungsoptimum für *Uredo glumarum* bei etwa 11° C liegt, da hier 100%ige Sporenkeimung mit größter durchschnittlicher Keimgeschwindigkeit stattfindet.

Wurden alle bisherigen Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf das Keimverhalten der Gelbrosturedosporen nur mit dem Biotyp 4 durchgeführt, so mußte durch einen abschließenden Versuch noch erwiesen werden, daß die Sporen anderer Gelbrostbiotypen kein von jenem abweichendes Verhalten zeigen. Zu diesem Zweck wurden die Sporen sämtlicher 14 Gelbrostbiotypen (Gaßner und Straib, 7), die mir von Herrn Dr. Straib, Gliesmarode, freundlichst zur Verfügung gestellt werden konnten, auf ihr Keimverhalten bei einer niederen und einer höheren Temperatur geprüft.

Die erste Versuchsserie wurde bei 11° C angesetzt. Das Ergebnis auf sämtlichen Platten war so, wie schon für Biotyp 4 angegeben wurde. Die Sporen aller 14 Biotypen waren bereits bei der ersten Kontrolle — nach 6 Stunden — zu 95—100% ausgekeimt. Obwohl vollkommen eindeutig, wurde der Versuch wiederholt und endete mit genau dem gleichen Resultat.

Die zweite Versuchsreihe fand bei 20° C statt. Auch diesmal war das Ergebnis ganz ähnlich dem für Biotyp 4 bei 19,5—20,5° C festgestellten

Verhalten. Auf Einzelheiten braucht deswegen hier nicht näher eingegangen zu werden.

Allgemein keimten die Sporen aller Rassen bei diesen Temperaturen so gleichmäßig aus, daß von einer unterschiedlichen Wirkung der Temperatur auf einzelne Gelbroststämme nichts wahrgenommen werden konnte. Durch Wiederholungen des Versuches wurde das Ergebnis bestätigt. Von einer Prüfung bei weiteren Temperaturen wurde deshalb auch abgesehen.

V. Einfluß des Lichtes.

Über die Bedeutung des Lichtes für die Keimung der Uredosporen von *Puccinia glumarum* schreibt Wilhelm (16) folgendes: „Auch das Licht scheint auf den eigentlichen Keimungsverlauf nicht von Einfluß zu sein. Bei gleichen Temperaturen keimten die Sporen ohne Unterschied, ob die Keimschalen in zerstreutem Tageslicht standen oder ob sie in einer Kiste dunkel standen. Die gleichen Feststellungen machten schon Eriksson und Henning bei der Keimung der Gelbrosturedosporen auf Wasser.“

Gleichzeitig mit einer Anzahl der im vorigen Abschnitt beschriebenen, nur bei Dunkelheit ausgeführten Keimprüfungen wurden Parallelversuche angesetzt, bei denen die Sporenplatten in zerstreutem Tageslicht standen, um einen evtl. Einfluß des Lichtes auf den Keimverlauf der Gelbrosturedosporen festzustellen. Solche Versuche wurden bei Temperaturen von 11—12°, 16,5—17,5° C und auch bei stärker schwankenden, aber bei Licht und Dunkelheit möglichst gleichen Temperaturen durchgeführt.

Während bei 11—12° C zwischen belichteten und unbelichteten Sporen kein wesentlicher Unterschied gefunden wurde, traten bei anderen Versuchen deutliche Differenzen auf. So zeigten sich bei Temperaturen von 16,5—17,5° C (für die unverdunkelten Platten lagen die Temperaturen durchschnittlich 0,5° tiefer) folgende Tatsachen: Die Keimung der Sporen ging im Dunklen in den ersten 12 Stunden schneller vor sich als in zerstreutem Tageslicht. Nach 12—15 Stunden begann dieser Unterschied aber bereits wieder zu verschwinden, und am Ende der Keimversuche, nach 24 bzw. 48 Stunden, war die Differenz in den Keimprozenten meist nur noch sehr gering (s. Abb. 2) oder eine solche war überhaupt nicht mehr zu erkennen. Zwar ließ sich bei den beschriebenen Versuchen die von Gaßner und Appel (5) gestellte Forderung, die Temperaturverhältnisse der belichteten und unbelichteten Sporen genau auszugleichen, nicht immer vollkommen erfüllen. Für die im Dunklen gehaltenen Schalen lag die Temperatur durchschnittlich um 0,5—1° höher als für die belichteten, jedoch kann diese schwache Differenz keineswegs für die gefundenen Ergebnisse verantwortlich gemacht werden, da ein Temperaturunterschied von 0,5—1° nicht derartige Keimungsunterschiede zur Folge haben kann, wenigstens nicht in den vorliegenden Fällen, wo

eine Temperaturerhöhung (Dunkelversuche) nach dem oben Gesagten eine Verlangsamung des Keimungsverlaufes bedingen müßte.

Auch bei einer Reihe weiterer Keimversuche zeigte es sich, daß die Keimung der Gelbrosturedosporen im Dunklen in den ersten 12 Stunden schneller vor sich geht, daß dieser Unterschied aber bereits nach etwa 12—15 Stunden zu verschwinden beginnt. So waren in einem Versuch, bei dessen Beginn die Temperatur der Licht- und Dunkelplatten 13° C be-

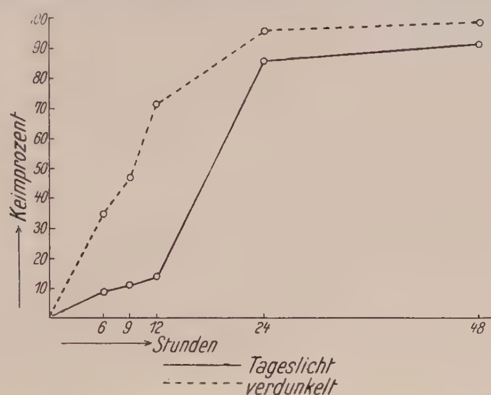


Abb. 2.
Keimung der Gelbrosturedosporen im Dunklen (16—17°) und in zerstreutem Tageslicht (16,5—17,5° C).

trug, nach 6 Stunden ein Maximum von 20° erreichte und danach wieder bis auf 13° C abfiel, die Keimprozente folgendermaßen:

nach	6	Stunden	im	Licht	50 %,	im	Dunklen	80 %
„	9	„	„	„	76 %,	„	„	99 %
„	12	„	„	„	80 %,	„	„	99 %
„	24	„	„	„	99 %,	„	„	99 %.

Ein ähnlicher Versuch mit einem Temperaturmaximum von 17° C und einem Minimum von 12° C ergab bei gleichsinnigem Temperaturverlauf zwischen belichteten und unbelichteten Schalen folgende Unterschiede:

nach	6	Stunden	im	Licht	26 %,	im	Dunklen	99 %
„	9	„	„	„	40 %,	„	„	99 %
„	12	„	„	„	55 %,	„	„	99 %
„	24	„	„	„	99 %,	„	„	99 %.

Diese Tatsachen sprechen also dafür, daß das Licht auf *Uredo glumarum* in ähnlicher Weise hemmend einwirkt, wie Stock es für *Uredo graminis* fand. Während aber bei den Sporen von *Puccinia graminis* bereits nach 8 Stunden zwischen belichteten und unbelichteten Platten kein Unterschied mehr zu erkennen war, ließen sich bei *Puccinia glumarum* nach dieser Zeit noch deutliche Differenzen feststellen.

Zur Vervollständigung dieser Ergebnisse wurden auch Versuche mit künstlichen Lichtquellen gemacht und die Sporenplatten in einen Beleuchtungsapparat gebracht, dessen Lichtstärke auf Grund experimenteller Beobachtungen von Gaßner und Goeze gleich der eines sonnigen Tages im August festgestellt werden konnte. Die Versuche bestätigten die bereits bei Tageslicht gefundenen Resultate über die keimungshemmende Wirkung des Lichtes auf die Gelbrosturedosporen und brauchen deshalb hier nicht ausführlicher wiedergegeben zu werden.

VI. Einfluß des Sporenalters.

Schließlich wurden bei der Durchführung der Keimversuche noch einige Beobachtungen über den Einfluß des Sporenalters auf Keimfähigkeit der Sporen und Keimverlauf gemacht, die hier kurz Erwähnung finden sollen. Ganz allgemein wird angenommen, daß die Sporen, die 4—8 Tage auf den Blättern der Wirtspflanzen bleiben, gleich gute Kei-

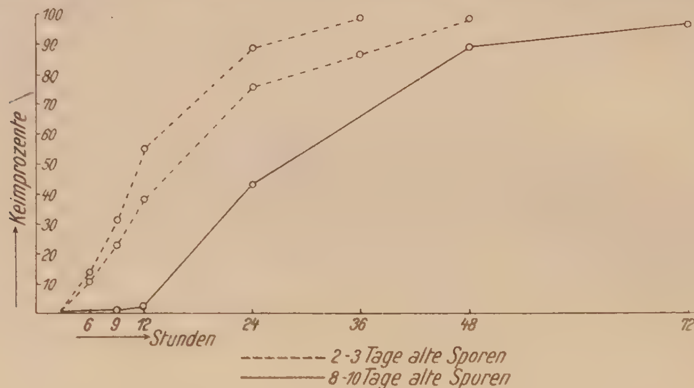


Abb. 3.
Keimung von 2—3 und 8—10 Tage altem Sporenmaterial bei 19—20° C.

mungsresultate zeigen (Wilhelm, 16; Gaßner und Straib, 6, u. a.). Meine Versuche wurde gleichzeitig mit 2—3 und 8—10 Tage altem Sporenmaterial angesetzt. Während bei Temperaturen bis zu etwa 16° C keine merklichen Unterschiede zu erkennen waren, zeigte sich bei 19 bis 20° C eine immerhin merklich langsamere Keimung der 8—9 Tage alten Sporen. 2—3 Tage alte Sporen sind nach 12 Stunden gewöhnlich zu etwa 40—50% ausgekeimt, bei 8—10 Tage alten Sporen gehen die Keimprozente in den ersten 12 Stunden selten über 5%. Allerdings steigt danach auch noch bei diesen Sporen die Keimung ziemlich hoch an, so daß nach 48 Stunden noch 90% ausgekeimte Sporen gefunden werden. Es handelt sich in diesem Falle also durchaus noch nicht um eine Verschlechterung der Keimung, sondern höchstens um eine Verzögerung derselben. Mehrfache Wiederholungen der Versuche ergaben stets ähnliche Resultate (s. Abb. 3).

VII. Hauptergebnisse.

1. In den vorliegenden Untersuchungen wurde gezeigt, daß sowohl die Temperatur als auch das Licht für die Keimung der Gelbrosturedosporen von Wichtigkeit ist. Das Keimungsoptimum für *Uredo glumarum* wurde bei 11° C festgestellt, da hier in kürzester Zeit maximale Keimung stattfindet. Hundertprozentige Keimung wird auch noch bei Temperaturen bis zu 20° erreicht, doch ist hier die mittlere Keimungsdauer schon bedeutend verlängert. Das Temperaturoptimum für *Puccinia glumarum* liegt deutlich tiefer als die Optima der 4 Arten *Puccinia triticina* (12,5—25° C), *Puccinia dispersa* (9—22,5° C), *Puccinia coronifera* (14—22,5° C) und *Puccinia graminis* (11—23° C), welche Werte Stock für diese Arten feststellen konnte. Das Temperaturmaximum, das bei den 4 letztgenannten Rostarten bei über 30° C liegt, konnte für *Puccinia glumarum* mit 25° bestimmt werden. Das Minimum ist das gleiche wie für *Puccinia dispersa* (dicht über 0° C), während *P. graminis, triticina* und *coronifera* ein solches von 2°, 2,5° und 5° C aufweisen.

2. Betreffend der Wirkung des Lichtes auf die Keimung der *Puccinia-glumarum*-Uredosporen konnte ein hemmender Einfluß desselben gegenüber Keimungen in der Dunkelheit festgestellt werden. *Uredo glumarum* scheint sich also, wenigstens bei bestimmten Temperaturen, in dieser Beziehung ähnlich wie *Uredo graminis* zu verhalten. Durch Versuche mit künstlichen Lichtquellen wurden die Ergebnisse ebenfalls bestätigt.

3. Zwischen 2—3 und 8—10 Tage alten Sporen liegen deutliche Unterschiede im Keimverhalten vor; bei Temperaturen von 19—20° C tritt mit zunehmendem Alter der Sporen zunehmende Verlangsamung der Keimung ein.

VIII. Schriftenverzeichnis.

1 Beauvérie, J., Sur la germination des urédospores des rouilles du blé. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris 179. 1924.

2 Becker, J., Untersuchungen über die Lebensfähigkeit von Uredosporen von *Puccinia glumarum*. Kühn-Archiv. 19. 1928.

3 Eriksson und Henning, Die Getreideroste. Stockholm 1896.

4 Gaßner, G., Die Feststellung der Schädigung des Saatgutes durch Beizmittel. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 36. 1926.

5 Gaßner, G., und Appel, G. O., Untersuchungen über die Infektionsbedingungen der Getreiderostpilze. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt. 16. 1928.

6 Gaßner, G., und Straib, W., Untersuchungen über die Infektionsbedingungen von *Puccinia glumarum* und *Puccinia graminis*. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt. 16. 1928.

7 Gaßner, G., und Straib, W., Die Bestimmung der biologischen Rassen des Weizengelbrostes. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt. 1932.

8 Johnson, E. C., Cardinal temperatures for the germination of uredospores of cereal rusts. Phytopathology 2. 1912.

9 Lang, W., Beobachtungen über das Auftreten von Gelbrost. Festschrift zur Feier des hundertjährigen Bestehens der Landwirtschaftlichen Hochschule Hohenheim, 1918.

10 Mains, E. B., Some factors concerned in the germination of rust spores. Rep. Mich. Acad. Sci. 17. 1916.

11 Melhus, J. E., und Durrel, L. W., Studies of the crown rust of oats. Jowa. Agr. Exp. Sta. Res. Bull. 49. 1919.

12 Metha, K. C., Observations and experiments on cereal rusts in the neighbourhood of Cambridge. Rev. Appl. Myc. 3. 20.

13 Raeder, J. M., and Bever, W. M., Spore germination of *Puccinia glumarum* with notes on related species. Phytopathology 21. 8.

14 Schaffnit, E., Biologische Beobachtungen über die Keimfähigkeit und Keimung der Uredo- und Aecidiosporen der Getreideroste. Ann. Mycol. 7. 1909.

15 Stock, F., Untersuchungen über Keimung und Keimschlauchwachstum einiger Getreideroste. Phytopathologische Zeitschrift III. 1931.

16 Wilhelm, P., Studien zur Spezialisierungsweise des Weizengelbrostes, *Puccinia glumarum f. sp. tritici* (Schmidt) Erikss. u. Henn., und zur Keimungsphysiologie seiner Uredosporen. Arbeiten der Biologischen Reichsanstalt 19. 1931.

Aus dem Forstbotanischen Institut der Technischen Hochschule Dresden in Tharandt.

Vorstand: Prof. Dr. E. Münch.

Ueber die Schüttekrankheit der Kiefernnadel (*Pinus silvestris* und *Pinus strobus*).

Von

Dr. W. Langner.

Mit 7 Textabbildungen.

Im Winterhalbjahr 1931 32 befaßte ich mich mit mykologischen und pathologischen Studien. Als Material standen mir u. a. mit *Lophodermium pinastri* und *Hypoderma brachysporum* infizierte Nadeln von *Pinus silvestris* und *Pinus strobus* zur Verfügung. Untersuchungen, die ich über diese beiden forstschädlichen Pilze anstellte, führten zu den nachfolgend mitgeteilten Ergebnissen.

Herrn Prof. Dr. E. Münch sei an dieser Stelle verbindlichst für die Förderung der Arbeit gedankt; ebenso Herrn Forstreferendar Martin Pfeiffer, der mir bei der Kontrolle der Versuche stets gern behilflich war.

I. *Lophodermium pinastri* (Schrad.).

1. Die Kultur des Pilzes.

Reinkulturen von *Lophodermium pinastri* wurden bereits durch von Tubeuf, Haack, Münch und andere aus den Askosporen gezogen. Ich bediente mich bei der Herstellung der Reinkulturen des Verfahrens von Münch (7), das für alle Pilze anwendbar ist, deren Fruchtkörper wie *Lophodermium pinastri* die Sporen aktiv ausschleudern. Die Apparatur besteht aus einem Drahtsieb, dessen Unterseite mit Tuch bekleidet ist. In der Mitte des Siebes wird in die Stoffbekleidung ein Loch geschnitten. Dieser Apparat wird angefeuchtet, die reife Apothecien tragenden Nadeln werden, die Apothecien nach unten, auf die freie Stelle des Siebes gelegt, und die über den Siebrand hinausragenden Stoffzipfel darüber geschlagen. Nun wird das Sieb so auf eine Petrischale mit Nährboden gesetzt, daß die freie Siebstelle innerhalb der Schalenöffnung liegt. Der Rand der Petrischale muß dabei dicht dem Tuch des Siebes anliegen, damit von außen keine fremden Sporen eindringen können. So wird der Apparat stehen gelassen, bis anzunehmen ist, daß die Fruchtkörper Sporen durch das Sieb auf den Nährboden abgeworfen haben. Dann wird das Sieb abgenommen und der sterile Petrischalendeckel rasch aufgesetzt. Unter dem Mikroskop wird darauf der Nährboden nach Sporen abgesucht und der Verlauf der Keimung beobachtet.

Auf diese Weise wurden am 20., 21. und 25. XI. 1931 Abwurfkulturen von *Lophodermium* pinastri sowohl auf einem Nährboden von 10% Gel., 3% Biomalz und 0,3% Zitronensäure, wie auch von 1% Agar und 3% Biomalz hergestellt. Die Nadeln lagen 12 Stunden zum Abwurf der Sporen im Sieb über der Petrischale.

Nach 5 Tagen hatte bei allen Sporen die Keimung begonnen. Die erhaltenen Myzelien waren in ihrer Form völlig einheitlich und stimmten mit der Beschreibung durch von Tubeuf überein. Von jeder Spore gingen nach allen Seiten einige kräftige Hauptstränge mit schwächeren Seitenästen aus. Die einzelnen Myzelfäden wuchsen spiralig auf der Oberfläche des Nährbodens hin. Dagegen unterschieden sich die einzelnen Myzelien auffällig in der Farbe. Es gab sowohl rein weiße, wie auch gelbliche, rötliche und bräunliche. Später ausgeführte Einsporkulturen boten dasselbe Bild. Dabei zeigte sich, daß die Myzelien offenbar nicht gleichgeartet waren. Wuchsen in einer Schale beispielsweise 3 Stämme A, B und C, so reagierte Stamm A gegen B anders als gegen C. Es kam vor, daß sich 2 Myzelien deutlich mieden. Doch auch das Gegenteil, daß sie ineinanderwuchsen, konnte beobachtet werden. Dabei traten an den Berührungsstellen der verschiedenen Myzelien miteinander oft bräunliche Verfärbungen auf. Vermutlich handelt es sich hierbei um einen ähnlichen Fall von Heterothallie, wie ihn Mounce (6) bei *Fomes pinicola* gefunden und näher untersucht hat.

Mit diesen Einspormyzelien wurden am 3. I. 1932 Nadeln von *Pinus silv.* geimpft, die vorher in strömendem Wasserdampf sterilisiert worden waren. Sehr bald hatte das Myzel die Nadeln durchwachsen und am 8. II. 1932 wurden die ersten Pykniden als schwärzliche Pünktchen über die ganze Nadel zerstreut sichtbar. Zur Apothezienbildung kam es im Erlenmayerkolben bei mir ebensowenig wie bei v. Tubeuf und Haack, die den gleichen Versuch schon früher angestellt hatten. Vermutlich liegt das daran, daß sich im Glaskolben schwer oder nur zufällig das richtige Zusammenspiel der verschiedenen zur Fruchtkörperbildung nötigen Faktoren, wie Wärme und Feuchtigkeit, erreichen läßt.

Bei der Annahme einer Heterothallie ließe sich das Ausbleiben der Apothezienbildung auch damit erklären, daß bei der Beimpfung der Nadelproben mit Einspormyzelien immer nur eine Art von Myzelien zur Verwendung kam und deshalb keine Kreuzung stattfinden konnte. Auch hängt die Apothezienbildung vielleicht von einer Befruchtung des Myzels mit Pyknosporen ab, wie das Drayton (1) für *Sclerotium Gladioli* nachgewiesen hat.

Der Versuch, das Myzel auch in lebende Nadeln einwachsen zu lassen, blieb erfolglos. Die eingeschlagene Methode sei aber trotzdem mitgeteilt, weil sie zeigt, daß es durchaus möglich ist, lebende Einzelnadeln, ja sogar

ganze Triebe so zu sterilisieren, daß sie lange Zeit frei von jeder Infektion und dabei am Leben bleiben.

In Erlenmayerkolben wurden benadelte Kiefernzweige, die keinerlei Anzeichen einer Pilzinfektion aufwiesen, mit Sublimatlösung 1 :1000 behandelt. Die Gefäße wurden mit Sublimat angefüllt, und die Zweige darin unter Schütteln 4—5 Minuten gebadet. Dann wurde das Sublimat abgegossen, und steriles Wasser nachgefüllt, das während 12 Stunden mehrmals gewechselt wurde. Schließlich wurde das Wasser bis auf einen Rest abgegossen, und das Myzel auf die Nadeln gebracht. Verschlossen wurden die Kolben mit in Sublimat getauchten Wattepfropfen. Der gleiche Versuch wurde auch mit Einzelnadeln in Reagenzgläsern ausgeführt.

Bei dieser Behandlung bleiben Einzelnadeln im Glas zu fast 100% steril. Bei benadelten Zweigen macht nur die Sterilisation der Kurztriebscheiden Schwierigkeit, da diese das Sublimat nicht immer genügend eindringen lassen; doch blieben auch einige der so sterilisierten lebenden Zweige im Kolben über 4 Wochen lang pilzfrei und starben erst infolge allmählicher Austrocknung des beigegebenen Wassers ab.

In allen Fällen wuchs das Myzel zwar auf dem kleinen Vorrat von Nährboden, der dem Myzel beim Überimpfen mitgegeben wurde, ungehindert weiter, ein Eindringen in die lebende Nadel war jedoch in keinem Falle mit Sicherheit festzustellen, auch wenn den Nadeln die Spitze abgeschnitten und das Myzel auf die Wunde übertragen wurde. An welche Bedingungen das Eindringen des Myzels in das Nadelinnere geknüpft ist, steht noch in Frage. Vielleicht spielt dabei der Turgor der Nadel eine Rolle (v. Tubeuf, 9); auch ist es denkbar, daß eine Infektion nur durch die Askosporen und nicht durch Myzelien erfolgen kann.

2. Nachweis des Pilzmyzels in den Infektionsflecken.

Der Pathologe ist oft vor die Frage gestellt, ob kranke, mit verfärbten Flecken besetzte Kiefernnadeln an der durch *Lophodermium pinastri* verursachten Pilzschütte leiden oder durch irgendwelche anderen Ursachen geschädigt sind. Schon im Spätsommer sind an den neuen Nadeln winzige gelbliche und bräunliche Flecken zu beobachten. Später, im Winter und Vorfrühling, findet man größere gelb, braun und violett gefärbte Flecken, die, wenn sie in größerer Zahl auftreten oder die Nadel ganz umfassen, den Tod und das Abfallen der Nadeln im Frühjahr, die „Schütte“ zur Folge haben. An Nadeln, die im Frühjahr am Leben bleiben, tritt im Laufe des folgenden Sommers nicht selten eine dritte Form von Flecken auf, die sogenannten Goldflecken, das sind etwa 1—3 mm große, rundliche goldgelbe Verfärbungen, die einen punktförmigen kleinen dunkleren Fleck, offenbar den Ausgangspunkt der Verfärbung, umranden (Abb. 1).

Es sind von jeher Zweifel geäußert worden, ob alle derartigen Flecken Infektionsstellen des Schüttepilzes darstellen. Besonders über die Goldflecken ist man sich noch nicht im klaren. v. Tubeuf vermutet auch Insektenstiche als ihre Ursache.

Mikroskopisch ist in den Flecken, besonders in den sehr kleinen, gelblichen, ein Myzel oft nur nach langem Suchen an guten Präparaten, oft überhaupt nicht nachzuweisen, und ganz unbestimmt bleibt in jedem Falle die Art der mikroskopisch gefundenen Myzelien. Zur Bestimmung des Pilzes legt v. Tubeuf die Nadeln auf feuchtes Moos, worauf unter Umständen Pykniden und Apothezien von *Lophodermium* erscheinen; doch ist dieses Verfahren langwierig und unsicher. Die mikroskopischen Untersuchungen nordischer Forscher, die sich mit dieser Frage sehr eingehend befaßten (Hagem, 5), an braunen Flecken in vorgerücktem Stadium sowie an völlig gebräunten Nadeln führten zwar zu der Feststellung, daß diese verfärbten Stellen mit einem *Lophodermium* ähnlichen Myzel durchwachsen waren, eine sichere Bestimmung dieses Myzels unter dem Mikroskope konnte jedoch auch in diesen Fällen nicht erreicht werden.

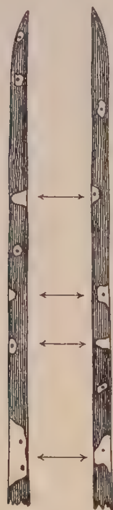


Abb. 1.
Goldflecke an einer zweijährigen Nadel von *Pinus silvestris* von zwei Seiten gesehen.
← → Der gleiche Fleck auf beiden Seiten.

Diese Unsicherheiten gaben schon zu manchen Irrtümern Anlaß. Ich suchte deshalb nach einem Verfahren, das rascher und leichter vorhandenes Myzel nachzuweisen und zu bestimmen gestattet und die Natur der fraglichen Fleckenbildung weiter aufklären sollte.

Es ist bekannt, daß Sublimat und gewisse andere Pilzgifte in Pflanzenteile, die durch Hautgewebe geschützt sind, nur sehr langsam eindringt. Man kann deshalb z. B. Samen aller Art mit diesen Mitteln äußerlich vollkommen sterilisieren, ohne sie innerlich zu schädigen. Meine Versuche ergaben, daß das auch für Kiefernnadeln gilt. Dadurch ist die Möglichkeit gegeben, direkt aus den Flecken befallener Nadeln vorhandenes lebendes Pilzmyzel in Reinkultur herauszuzüchten. Ob das erhaltene Myzel zu *Lophodermium* gehört, läßt sich dann durch Vergleich mit aus Sporen gezogenem *Lophodermium*-Myzel oder durch weitere Zuchtversuche mit diesem Myzel auf sterilisierten Nadeln, auf denen bald Pykniden auftreten, feststellen.

Dabei fand folgendes Verfahren Anwendung: Die fleckige Nadel wurde zunächst mit gewöhnlichem Leitungswasser kräftig abgespritzt und dann mit Sublimatlösung 1 : 1000 unter Schütteln 1—2 Minuten gebadet. Das Schütteln war nötig, damit die anhaftenden Luftbläschen, die die

Nadeloberfläche stellenweise vor der Berührung mit dem Sublimat schützen würden, sich loslösen. Darauf wurde die Nadel in sterilem Wasser abgewaschen und einige Zeit gewässert. Nun wurden mit einer in Formol sterilisierten und in absolutem Alkohol abgewaschenen Schere aus den Nadeln Stückchen herausgeschnitten und auf einem Gelatine- oder Agarnährboden ausgelegt.

Inwieweit diese Methode brauchbar ist, wird durch die nachfolgenden Versuche dargetan.

Als erste kamen am 5. I. 1932 Kiefernnadeln von 1931 mit gelben und braunen bis violetten Flecken, die im Herbst und Winter beobachtet wurden, zur Untersuchung. Das Ergebnis am 21. I. 1932 war: Aus 43 Stücken von fleckigen Nadelstellen wuchsen 10 einwandfreie *Lophodermium pinastri*-Myzelien und kein fremdes Myzel heraus.

Bei einem weiteren Versuch am 23. I. 1932 wurden die gelben und die braun- bis violettgefärbten Flecken getrennt untersucht. Zugleich wurden auch Stückchen fleckenloser, gesunder Nadeln auf Agarplatten ausgelegt. Ergebnis: Am 28. I. 1932 war aus den Stückchen der gesunden Nadel kein *Lophodermium*- und kein fremdes Myzel, aus den 18 gelben Stücken waren 4 *Lophodermium pinastri*- und 2 fremde Myzelien und aus 16 dunkleren braunen bis violetten Stücken 13 *Lophodermium pinastri*- und 0 fremde Myzelien herausgewachsen.

In den braunen bis violetten Flecken war also lebendes Myzel von *Lophodermium pinastri* so regelmäßig nachzuweisen, daß dieser Pilz, dessen Infektionskraft ja schon durch frühere Untersuchungen außer Zweifel gestellt ist, als der Erreger solcher Fleckenbildungen zu betrachten ist. Für die wenigen Fälle, in denen sich kein Myzel entwickelte, kann angenommen werden, daß das Myzel bei der Übertragung auf den Nährboden zugrunde ging, was ja bei der Überimpfung so kleiner Myzelteile auch sonst nicht selten vorkommt. Bei den gelben Flecken war der Erfolg aber in so vielen Fällen negativ, daß diese Erklärung wohl nicht ausreicht. Hier dürfte das Myzel schon in der Nadel abgestorben sein. Solche Nadelstellen sind meist völlig mit Harz durchtränkt, das auch die gelbe Farbe hervorzurufen scheint. Dieser Harzerguß dürfte das noch zarte Myzel zum Ersticken bringen und also, wie auch in anderen Fällen von Nadelholzkrankheiten, als vorteilhafte Reaktion gegen den Pilz zu betrachten sein.

Um auf die gleiche Weise auch die erwähnten punktförmigen, kaum sichtbaren hellgelben Flecke zu prüfen, wurden am 4. IX. 1932 gepflückte Nadeln von 1932 ebenso behandelt. Dieser Versuch fiel aber wenig befriedigend aus, weil auf den Platten aus irgendwelchen Gründen *Mucor* und *Dematium pullulans* stark überhand nahm. Nur in einem Falle wuchs ein Myzel heraus, das mit *Lophodermium pinastri* mikroskopisch übereinstimmte. Der Versuch müßte wiederholt werden, um mit Sicherheit

behaupten zu können, daß die fraglichen hellgelben Flecken die Anfangszustände der Infektionsflecken darstellen.

Weitere Untersuchungen betrafen die erwähnten Goldflecken an vorjährigen Nadeln. Die Nadeln wurden am 5. VII. 1932 gepflückt. 50 Nadelstücke wurden zwischen den Flecken, 35 aus den Flecken selbst herausgeschnitten und auf Agarplatten ausgelegt.

Das Ergebnis am 23. VII. 1932 war: Aus 50 Stücken zwischen den Flecken wuchsen 0 *Lophodermium pinastri*-Myzelien heraus. Außerdem zeigten sich noch 5 weitere Myzelien von Hefen und Schimmelpilzen, die jedoch als Verunreinigungen zu betrachten sind. Die 25 Stücke aus den Flecken erbrachten 14 *Lophodermium pinastri*- und 7 andere Myzelien, darunter 5 von *Dematium pullulans*.

Die als *Lophodermium pinastri* angesprochenen Myzelien wurden auf in Dampf sterilisierte Kiefernnadeln geimpft. Am 3. IX. waren alle beimpften Nadeln dicht mit Pykniden besetzt, die massenhaft stäbchenförmige Pyknosporen absonderten.

Es sind also auch die „Goldflecken“, wenigstens in der Mehrzahl der Fälle, durch *Lophodermium pinastri* verursacht. Damit ist nicht ausgeschlossen, daß ähnliche Fleckenbildungen, die mit den eigentlichen Goldflecken verwechselt werden könnten, auch aus anderen Gründen, z. B. durch Insektenstiche (v. Tubeuf, 9) verursacht sein können.

Zugleich zeigt der Versuch, daß das Myzel des Pilzes örtlich auf die fleckigen Stellen beschränkt ist, denn aus den grünen Stellen zwischen den Flecken ist, abgesehen von den erwähnten Verunreinigungen, kein Myzel herausgewachsen. Diese Stellen sind auch an den soeben erst abgeworfenen Nadeln noch grün, erst nach und nach nehmen sie eine braune Färbung an. Ob diese Bräunung durch weiteres Vordringen des Pilzes hervorgerufen wird oder dadurch, daß das Zwischenstück infolge Unterbrechung der Saftleitung abstirbt, ist noch ungeklärt; vermutlich wirkt beides zusammen. Daß der Pilz nach Abfall der Nadel von den Flecken aus weiter vordringt, geht übrigens daraus hervor, daß die später auftretenden Apothezien oft auf der ganzen Länge der Nadel gebildet werden.

Wie erwähnt, finden sich in einzelnen Fällen auf dem Agar fremde Myzelien ein. Meist sind dies Hefen und Schimmelpilze, die ohne weiteres als Verunreinigungen anzusehen sind. Ziemlich regelmäßig, wenn auch viel weniger häufig als *Lophodermium pinastri*, tritt aber auch *Dematium pullulans* auf. Um ausgekeimte Sporen, die der Nadel außen aufgesessen wären, kann es sich dabei kaum handeln, denn die Sublimatlösung dürfte solche sämtlich getötet haben. Wahrscheinlich ist das Myzel dieses Pilzes in einzelnen Fällen auch im Innern der Flecken vorhanden; wobei es aber dahingestellt bleiben muß, ob es die Flecken selbst verursacht hat oder erst

nachträglich in die von *Lophodermium pinastri* getöteten Nadelstellen eingedrungen ist.

3. Die Widerstandsfähigkeit des Myzels.

a) Die Empfindlichkeit gegen Hitze und Trockenheit.

Nach Münch (8) können unter Umständen durch Sonnenbestrahlung in der obersten Nadelstreu, also auch in den abgeworfenen Nadeln, Temperaturen von über 60° erzeugt werden. Es war zu prüfen, ob das Pilzmyzel dieser Hitze und der damit verbundenen Austrocknung zu widerstehen vermag.

Zur Untersuchung kamen am 5. VII. 1932 gesammelte, durch *Lophodermium pinastri* getötete braune Nadeln des Jahrganges 1931. Einige Nadeln blieben waldfrisch. Der Hauptteil wurde im elektrischen Trockenschrank bei 40° C breit ausgelegt. Nach 10 Minuten, als mit Sicherheit die Nadeln diese Temperatur angenommen hatten, nahm ich ein paar Nadeln heraus und erhöhte die Temperatur um 5°. Nach 10 Minuten entnahm ich wieder einige Nadeln. So wurde von 5 zu 5° die Temperatur bis zu 75° gesteigert und bei jeder Temperaturstufe eine Nadelprobe herausgenommen. Die letzten Nadeln wurden dann noch 10 Minuten einer Wärme von 95° ausgesetzt. Zur Gewichtskontrolle diente eine gesondert gehaltene, vorher gewogene Nadelprobe, die bei jeder Temperaturstufe wieder gewogen wurde. Einige Nadeln wurden bei 40° bis zur Gewichtskonstanz austrocknen gelassen. Von jeder Probe wurden etwa 20 bis 30 Nadelstückchen auf Agarplatten ausgelegt (Methode wie bei 2).

Das Ergebnis am 23. VII. zeigt die folgende Tabelle:

Probe	Temperaturstufe °C	Abtrocknungsgrad in Prozent des Waldfrischgewichts	Aus ... Prozent der Stücke wuchs *Lophodermium*-Myzel heraus
a)	—	100	53
b)	40	91	93
c)	45	82	65
d)	50	78	61
e)	55	76	45
f)	60	74	44
g)	65	73	71
h)	70	70	56
i)	75	70	29
k)	95	67	10
l)	40[1]	66	48

Die Myzelien aus k) und l) wurden auf in Dampf sterilisierte Kiefernnadeln geimpft. Nach 4 Wochen saßen den Nadeln zahlreiche Pykniden mit stäbchenförmigen Pyknosporen auf, wodurch der Beweis geliefert ist, daß es sich wirklich um *Lophodermium pinastri* handelt.

[1]) Das heißt bei 40° bis auf Gewichtskonstanz getrocknet.

Der Pilz hält also offenbar selbst 95° C eine kurze Zeit aus. Daß in diesem Falle nur aus 10% der Stücke *Lophodermium pinastri*-Myzel herausgewachsen ist, deutet darauf hin, daß die Erhitzung doch vielleicht schädigend auf den Pilz gewirkt hat. Bei den in der Natur beobachteten Höchsttemperaturen von nur wenig über 60° ist jedenfalls keine Schädigung des Pilzes eingetreten.

Auch die Austrocknung bei 40° bis zur Gewichtskonstanz schadete nicht. Überhaupt scheint der Pilz gegenüber Austrocknung eine ähnliche Widerstandsfähigkeit zu besitzen wie gegen trockene Hitze. Dies ließ sich an schüttekranken Nadeln von Kiefernzweigen erkennen, die unter verschiedene Feuchtigkeitsverhältnisse gebracht worden waren. Die Zweige waren im geheizten Zimmer teils völlig ohne Wasser, teils mit ihrer Schnittfläche im Wasser, teils frei, teils unter einer Glasglocke gestanden und wogen 44—107% ihres Waldfrischgewichtes. Sie wurden in gleicher Weise wie vorhin auf *Lophodermium pinastri* untersucht, mit folgendem Ergebnis:

Gewicht der Nadeln in Prozent des Frischgewichtes	Aus . . . Prozent der Stücke wuchs *Lophodermium*-Myzel heraus
44	13
48	22
50	0
51	33
54	83
59	17
71	100
83	91
95	100
107	81

Die Unregelmäßigkeit der Zahlen in dieser und der vorigen Tabelle erschweren die Beurteilung, ob und inwieweit durch die Erhitzung und Trockenheit eine Schädigung des Pilzmyzels eingetreten ist. Jedoch ist so viel sicher, daß wenigstens ein erheblicher Teil der Myzelien gegen beide Einflüsse außerordentlich widerstandsfähig ist.

b) Die Lebensdauer von *Lophodermium pinastri* in der trockenen Kiefernnadel.

In der Natur bilden sich auf den abgefallenen Schüttenadeln etwa von Juni ab bei genügender Feuchtigkeit die Apothezien, die sich bei feuchtem Wetter öffnen und die infizierenden Sporen entlassen. Tritt aus Mangel an Feuchtigkeit die Apothezienbildung nicht ein, so ist im gleichen Jahre eine weitere Verbreitung des Pilzes unmöglich. Es fragt sich jedoch, ob das Myzel in der toten Nadel mehrere Jahre am Leben zu bleiben und dann bei günstigem Wetter nachträglich Apothezien zu bilden vermag.

Im Forstbotanischen Institut waren Schüttenadeln aus Kiefernbeständen Sachsens und der Pfalz aus den Jahren 1921, 1924 und 1928 in Papiertüten trocken aufbewahrt worden. Diese wurden 1932 mit unserer Methode auf lebendes Pilzmyzel untersucht. Weder aus 238 Stückchen der Nadeln von 1921, noch aus 19 Stückchen der Nadeln von 1924, noch aus 28 Stückchen der Nadeln von 1928 wuchs irgendein Myzel heraus. Demnach ist bei trockener (also naturwidriger) Aufbewahrung in über 3 Jahre alten Schüttenadeln der Pilz abgestorben. Das Myzel von *Lophodermium pinastri* hat also in trockenem Zustande nicht die Lebensdauer, wie es für gewisse andere Pilze (z. B. den Hausschwamm, der auf viele Jahre hinaus trocken lebend bleiben soll) angegeben wird. Ausgeschlossen ist jedoch nicht, daß sich das Myzel unter natürlichen Verhältnissen bis in den zweiten Sommer am Leben erhalten kann.

4. Der Einfluß der Infektion auf die Verdunstung der Kiefernnadel.

v. Tubeuf spricht in seinen Studien über die Schüttekrankheit der Kiefer die Vermutung aus, daß die durch *Lophodermium pinastri* erzeugten Nadelflecken nicht mehr den vollen Verdunstungsschutz der gesunden Nadel haben und daher zur gesteigerten Wasserabgabe der kranken Nadel führen. Ob diese Annahme berechtigt ist, prüfte ich mit folgendem Versuch:

Am 25. III. 1932 gepflückte Nadeln des Jahrganges 1931 mit zahlreichen bräunlichen bis violetten Flecken, die ich gleichzeitig mit fleckenlosen Nadeln desselben Jahrganges untersuchte, wiesen folgenden Wassergehalt auf:

Es hatten die gesunden Nadeln

141, 142, 146, 128, 151% Wasser

die erkrankten Nadeln nur

123, 119, 114, 106, 121% Wasser

vom Absoluttrockengewicht.

Der geringere Wassergehalt der kranken Nadeln läßt die Frage offen, ob diese stärker Wasser abgegeben haben als normal oder ob der Wassernachstrom aus dem Stamme durch die Infektion gestört gewesen ist. Daß letzteres zum mindesten nicht allein zutrifft, beweist der folgende Versuch:

Abgepflückte kranke und gesunde Nadeln wurden im geheizten Zimmer abtrocknen gelassen und von Zeit zu Zeit gewogen. Am 9. Tage war das Lufttrockengewicht erreicht. Zum Schluß wurden beide Nadelsorten im elektrischen Trockenschrank bis zur Absoluttrockenheit abgedörrt.

Die ermittelten Gewichte wurden in % vom Waldfrischgewicht graphisch über der Zeit aufgetragen. Die Werte am 9. Tage stellen das Lufttrockengewicht, die am 10. das Absoluttrockengewicht dar (Abb. 2).

Das Bild zeigt deutlich, daß die kranken Nadeln ihr Wasser rascher abgeben als die gesunden. Nur am 9. und 10. Tage liegen die Werte der kranken Nadeln über den der gesunden. Das hängt damit zusammen, daß das Waldfrischgewicht, auf das ja alle Gewichte bezogen sind, bei den kranken Nadeln bereits ein Abtrocknungsstadium darstellt, während Luft- und Absoluttrockengewicht bei gesunden wie kranken Nadeln gleich hoch ist. Die Bezugsgröße ist also für das Luft- und Absoluttrockengewicht der kranken Nadeln kleiner als für das der gesunden, die erhaltenen Prozentzahlen müssen daher größer sein.

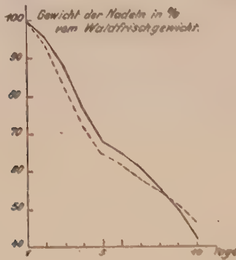


Abb. 2.
Gewichtsabnahme abtrocknender Nadeln von *Pinus silvestris* (Mittel aus vier Untersuchungen.)
——— gesunde } Nadeln
··········· schüttebefallene } Nadeln

Die gesteigerte Wasserabgabe der kranken Nadel gegenüber der gesunden konnte ich auch folgendermaßen nachweisen:

Im Februar 1932 schnitt ich gesunde und stark befallene Kiefernzweige und brachte immer je einen gesunden zusammen mit einem kranken Zweig unter die gleichen Bedingungen der Transpiration und Wasseraufnahme. Die Zweige standen im geheizten Zimmer:

1. mit der Schnittfläche in Wasser und unter einer Glasglocke,
2. frei in Wasser,
3. frei ohne Wasser,
4. frei ohne Wasser; später in Wasser und unter einer Glasglocke,
5. frei ohne Wasser; später frei in Wasser.

Das Waldfrischgewicht der Zweige war zuvor ermittelt worden.

Während der Versuchszeit wurden die Gewichtsveränderungen laufend festgestellt. Die ermittelten Gewichte wurden in % vom Waldfrischgewicht über der Zeit graphisch dargestellt (Abb. 3—5).

Danach nehmen die beiden unter der Glasglocke in Wasser stehenden Zweige kräftig Wasser auf (Abb. 3; C_1 K_1). Das Gewicht des kranken Zweiges (K_1) steigt innerhalb 24 Stunden auf 121%, das des gesunden (C_1) auf 113% des Waldfrischgewichtes. Die größere Wasseraufnahme des kranken Zweiges erklärt sich daraus, daß die infizierte Nadel infolge ihres (vorher festgestellten) geringeren Wassergehaltes ein größeres Saugvermögen besitzt als die gesunde. In Verbindung mit dem vorherigen Versuch darf daraus geschlossen werden, daß die stärkere Abtrocknung der infizierten Nadeln nicht durch eine etwaige Störung der Wasserzufuhr verursacht sein kann. Und da es sich im vorliegenden Falle um besonders stark infizierte Nadeln handelt, kann das Ergebnis dahin erweitert werden, daß etwaige Störungen der Wasserzufuhr durch den Pilzbefall keine entscheidende Rolle spielen.

Vom 2. Tage ab behält der kranke Zweig einige Zeit mit geringen Schwankungen sein Gewicht bei, bis er schließlich langsam wieder leichter wird. Beim gesunden Zweig dagegen steigt das Gewicht von 113% ziemlich stetig weiter und geht nur ganz geringfügig vom 24.—26. Tage zurück. Schon die offenbar doch ganz geringe Verdunstungsmöglichkeit unter der Glasglocke verursacht also eine Gewichtsabnahme des kranken

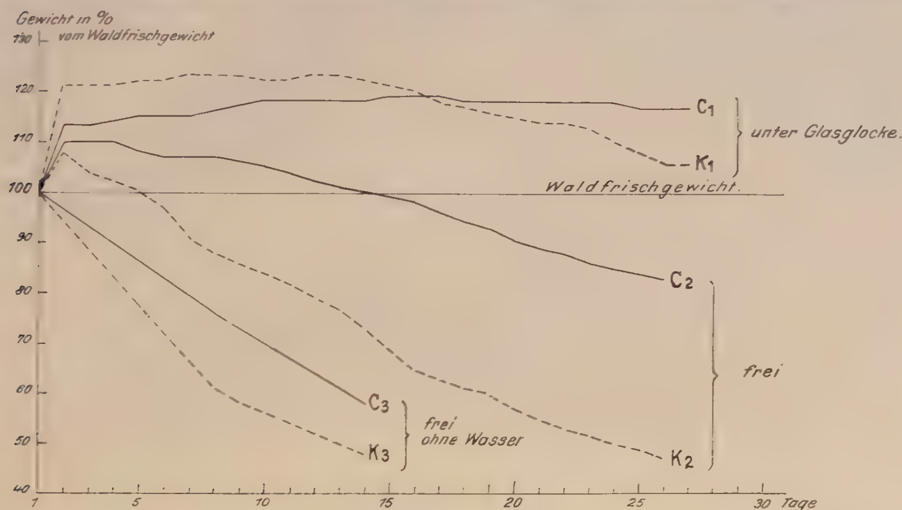


Abb. 3.

Die Gewichtsveränderungen gesunder (C ——) und schüttebefallener (K ···) Kiefernzweige.
C_1 K_1 stehen in Wasser unter Glocke
C_2 K_2 stehen frei in Wasser
C_3 K_3 stehen frei ohne Wasser.

Zweiges. Fehlt aber der Verdunstungsschutz, stehen die Zweige also frei in Wasser (Abb. 3; C_2 K_2), so steigt zunächst ebenfalls das Gewicht beider Zweige, wenn auch weniger stark, doch der kranke Zweig (K_2) erreicht schon nicht mehr ganz das Gewicht des gesunden (C_2). Bereits vom 2. Tage ab verliert jedoch der kranke Zweig so stark sein Wasser, daß er schon am 5. Tage sein Anfangsgewicht wieder erreicht und rasch — obwohl er im Wasser steht — völlig vertrocknet, während der Vergleichszweig bedeutend langsamer abwelkt. Ebenso verliert der kranke Zweig sein Wasser rascher als der gesunde, wenn die beiden Zweige ohne Wasser der Verdunstung im geheizten Zimmer ausgesetzt sind (Abb. 3; C_3 K_3).

Mit dieser Wasserabgabe der Zweige ist mehr oder weniger ein Vertrocknen und Absterben der Nadeln verbunden. Der Grad dieser Schädigung kommt am besten in der Erholungsfähigkeit der Zweige zum Ausdruck, wenn man sie nach der Abtrocknung ins Wasser stellt (Abb. 4). Dauerte die Abtrocknung nur 4 Tage (Abb. 4; C_1 K_1), so erholte sich der gesunde Zweig fast vollständig, während der kranke nur wenig Wasser

wieder aufnahm. Dasselbe Bild, nur noch ungünstiger für den kranken Zweig, ergab sich, wenn die Zweige 8 Tage ohne Wasser gewesen waren (Abb. 4, $C_2 K_2$). Ließ ich die Zweige 14 Tage abtrocknen, so waren beide nicht mehr erholungsfähig (Abb. 4, $C_3 K_3$).

Unter einer Glasglocke ist die Wasseraufnahme natürlich stärker (Abb. 5).

Sind die Zweige einmal vertrocknet, so ist, abgesehen von den Flecken an den kranken Nadeln, das Aussehen der vertrockneten schütte-

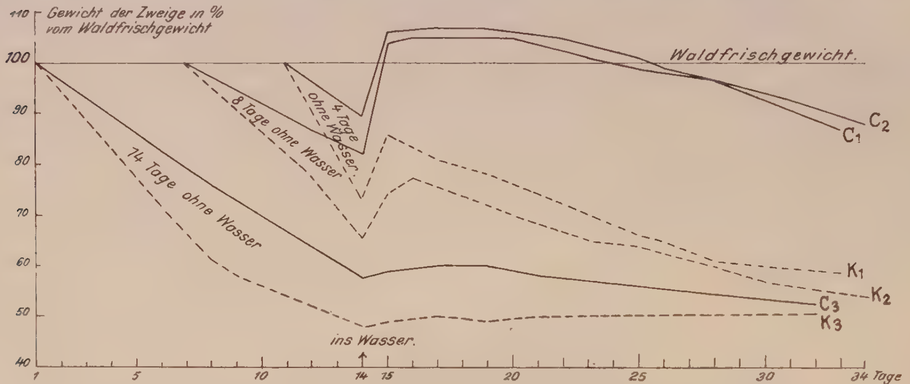


Abb. 4.
Die Erholungsfähigkeit gesunder (C ——) und schüttebefallener (K ------) Zweige von *Pinus silvestris*. C_1 K_1 nach 4, C_2 K_2 nach 8 und C_3 K_3 nach 14 Tagen ins Wasser.

kranken und gesunden Zweige völlig gleich. Nur geht die Vertrocknung der erkrankten rascher als die der gesunden, und tritt auch dann ein, wenn sie mit ihrer Schnittfläche in Wasser, ja sogar wenn sie noch überdies unter einer Glasglocke stehen. Der Abwurf der vertrockneten Nadeln vollzieht sich außerordentlich schnell und leicht. Schon bei Anstoß der Zweige „schütten" sie ihre Nadeln.

Ganz allgemein hielt man früher den plötzlichen Abwurf der Kiefernnadeln im Frühjahr für eine bloße Folge trockener Witterung bei gefrorenem oder noch kühlem Boden (Ebermayer, 2). Man war der Meinung, daß es sich dabei um eine reine Vertrocknungserscheinung handele, obgleich man sich hätte sagen müssen, daß gerade für die Kiefer, dem dürreresistentesten Nadelholz unseres Waldes, der Vertrocknungstod besonders unwahrscheinlich ist. Die vor der Vertrocknung schon im Spätsommer und Herbst des Vorjahres an den Nadeln auftretenden Flecken, als deren Urheber bereits im Jahre 1852 Göppert (3) den Pilz *Lophodermium pinastri* vermutete, wurden zunächst noch nicht mit der Erscheinung in Zusammenhang gebracht.

Eine entscheidende Bresche in diese Vertrocknungstheorie legte die erfolgreiche Bekämpfung der Schütte mit Pilzgiften, so vor allen Dingen

mit der wohl erstmalig von Bartet und Vuillemin angewendeten Bordelaiser Brühe (v. Tubeuf, 9). Langsam brach sich die Erkenntnis Bahn, daß es sich bei dieser Erscheinung um die Folge einer Infektion durch den Pilz *Lophodermium pinastri* handele. Immerhin konnte man der Vertrocknungstheorie noch so viel einräumen, daß besonders ungünstige physiologische Trockenheit zu einem Abwurf der infizierten Nadeln führen kann, der unter günstigeren Feuchtigkeitsverhältnissen vielleicht nicht eingetreten wäre.

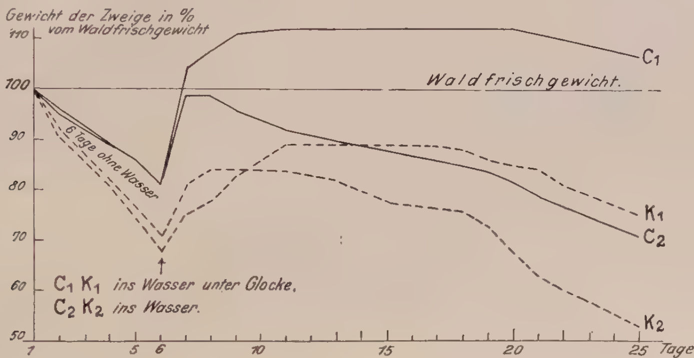


Abb. 5.
Die Erholungsfähigkeit gesunder (C ——) und schüttebefallener (K ------) Zweige von *Pinus silvestris*.

Die vorliegenden Versuche ergaben aber, daß die Infektion das allein Entscheidende für den Nadelabfall ist. Gesunden Zweigen vermag selbst tagelange Trockenheit im geheizten Zimmer ohne jede Wasserzufuhr nicht gefährlich zu werden, während Zweige mit fleckigen Nadeln auch dann vertrocknen, wenn sie im Wasser stehend unter eine Glasglocke, also unter Feuchtigkeitsverhältnisse gebracht werden, wie sie günstiger in der Natur für längere Zeit überhaupt nicht vorkommen. Die Vertrocknung selbst ist demnach als eine unvermeidliche Folge der Infektion und somit lediglich als Symptom zu bewerten. Damit ist aber der Vertrocknungstheorie auch die letzte Stütze genommen. Die vermeintliche Trockenschütte ist also ebenfalls durch den Pilz *Lophodermium pinastri* verursacht.

II. Die Kultur von *Hypoderma brachysporum* (Rostr.).

Zugleich mit der Kultur von *Lophodermium pinastri* wurde auch die von *Hypoderma brachysporum* versucht. Als Material lagen aus Heidelberg von Herrn Oberforstrat Krutina eingeschickte Nadeln von *Pinus strobus* mit Apothezien vor. Genau wie bei *Lophodermium pinastri* wurden Abwurfkulturen auf Agar und Gelatine hergestellt. Die Zahl der abgeworfenen Sporen war jedoch weitaus geringer als bei *Lophodermium*

pinastri. Nach etwa 5 Tagen keimten die länglichen Sporen (Abb. 6 a—d) auf Gelatine, nicht dagegen auf Agar. Auch von Gelatine auf Agar übergeimpfte Myzelien wuchsen nur äußerst kümmerlich weiter. Das Wachstum wurde erst nach Ansäuerung des Agar mit 0,1% Zitronensäure etwas besser, doch bei weitem nicht so gut wie auf Gelatine (10% Gelatine, 3% Biomalz, 0,3% Zitronensäure). Die erhaltenen Myzelien waren rein weiß, im Gegensatz zu *Lophodermium pinastri* in der Farbe einheitlich, sonst aber diesem ähnlich.



Abb. 6.
Sporen von *Hypoderma brachysporum.*
a) sogleich nach Abwurf aus den Schläuchen, b) 3 Tage später,
c) 5 Tage später (keimend). d) Spore mit mehreren Myzelfäden.

Mit diesem Myzel wurden in Wasserdampf sterilisierte Nadeln von *Pinus strobus* geimpft mit dem Erfolg, daß bereits drei Wochen später die Nadeln dicht mit punktförmigen Pykniden besetzt waren, die in dem die Nadeln überspinnenden Myzel entstanden und den Nadeln lose aufsaßen. Diese sonderten 8 μ lange (6—10 μ) und 1 μ dicke stäbchenförmige Pyknosporen ab. Von Apothezien war zunächst noch nichts zu entdecken. Doch schon nach weiteren 14 Tagen zeigten sich ca. 150 μ breite dunkle Pusteln, die nach näherer mikroskopischer Betrachtung als noch nicht voll entwickelte Apothezien angesprochen werden konnten. Diese saßen unmittelbar unter der Epidermis und hatten diese abgehoben und durchbrochen (Abb. 7a). In einem Falle ließen sich im mikroskopischen Bilde auch deutlich die Schläuche und Apophysen erkennen (Abb. 7b). Nur die Anzahl der in jedem Schlauche gebildeten Sporen war nicht festzustellen. Eine weitere Durchsicht des Materials nach Schlauch-

fruchtkörpern war leider ohne Erfolg, so daß diese Frage ungeklärt bleiben mußte. Doch kann schon auf Grund des beschriebenen Befundes die Kultur von *Hypoderma brachysporum* als gesichert bezeichnet werden.

Die Apothezien kamen hauptsächlich auf der der Glaswand angedrückten Nadelseite zur Ausbildung. Wahrscheinlich sind die Feuchtigkeitsverhältnisse zwischen Glaswand und anliegender Nadel, die je nach Außentemperatur stark wechseln (Kondenswasser bei Nacht, Abtrocknung bei Tag), der Apothezienbildung günstig und ähneln denen in der Natur (Tau, Sonnenbestrahlung).

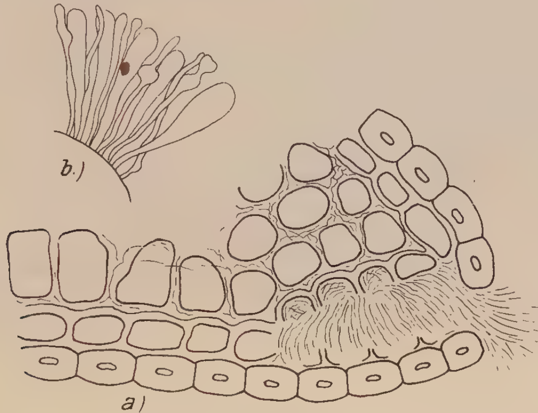


Abb. 7.
a) Anlage eines Apotheciums von *Hypoderma brachysporum* in der Ecke einer Nadel von *Pinus silvestris*.
b) Schläuche und Paraphysen aus einem reifen Apothecium.

Wie bei *Lophodermium pinastri* wurde versucht, lebende, sterilisierte Nadeln im Glaskolben mit Myzel zu infizieren. Der Erfolg war wie dort negativ. Daß es in einem Falle so aussah, als hätte das Myzel von dem Nährboden auf die Nadel übergegriffen, möchte nicht als sicheres Ergebnis gebucht werden, ebenso nicht, daß in diesem Falle später an den Nadeln Pykniden gebildet wurden; denn in anderen Fällen blieb der Infektionserfolg aus, und außerdem ist es nicht sicher, ob die betreffenden Versuchsnadeln nicht schon vorher unbemerkt gebliebene Infektionen mit *Hypoderma brachysporum* enthielten.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

I. Lophodermium pinastri.

1. Kulturen aus Sporen unterschieden sich in Farbe und gegenseitigem Verhalten weitgehend, so daß Heterothallie zu vermuten ist.

Auf sterilisierten toten Nadeln von *Pinus silvestris* bildete das Myzel Pykniden, jedoch keine Apothezien. In sterilisierte lebende Nadeln wuchs es dagegen nicht hinein.

2. An erkrankten einjährigen Nadeln auftretende gelbe, braun und violett gefärbte Flecken, die der typischen „Schütte" vorausgehen, sowie die eigentlichen „Goldflecken" an älteren Nadeln sind durch Infektion mit *Lophodermium pinastri* verursacht. Der Nachweis wurde dadurch erbracht, daß der Pilz aus den Flecken in zahlreichen Fällen in Reinkultur gezüchtet wurde.

Mit der gleichen Methode wurde festgestellt, daß in den grünen Stellen zwischen den Flecken kein Myzel vorhanden ist.

Die Rolle des *Dematium pullulans*, der sich in mehreren Fällen bei der Kultur ergab, ist noch aufzuklären.

3. Gegen kürzere Erhitzung und Austrocknung ist das Myzel außerordentlich widerstandsfähig, dagegen war es in drei und mehr Jahre lang trocken aufbewahrten Schüttenadeln nicht mehr am Leben.

4. Infizierte Nadeln geben mehr Wasser ab als gesunde. Durch den Pilzbefall etwa hervorgerufene Störungen der Wasserzufuhr aus dem Stamme spielen für das Vertrocknen der Nadeln keine entscheidende Rolle.

Die Annahme einer bloßen „Trockenschütte" ohne vorausgegangene Infektion durch *Lophodermium pinastri* ist abzulehnen.

II. Hypoderma brachysporum.

Der Pilz wurde aus Sporen rein kultiviert. Das Myzel bildete in sterilisierten toten Nadeln Pykniden und Apothezien, wuchs jedoch im Laboratorium nicht in sterilisierte lebende Nadeln hinein.

Literatur.

1 Drayton, F. L., The sexual funktion of the mikroconidia in certain discomycetes. Mycologia, Vol. XXIV, Nr. 3, 1932.
2 Ebermayer, E., Zur Schüttekrankheit der Kiefer. Allgem. Forst- und Jagdzeitung, 77. Jahrg., 1901.
3 Göppert, Verhandlungen des Schlesischen Forstvereins, 1852.
4 Haack, Der Schüttepilz der Kiefer. Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen, 1911.
5 Hagem, O., Lophodermium-Schütte in West-Norwegen. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 38. Jahrgang, Juli/August 1928, Heft 7/8.
6 Mounce, Jrene, The biology of fomes pinicola (SW) Cooke, Dominion of Canada, Departement of Agriculture, Bulletin Nr. 111, New Series.
7 Münch, E., Untersuchungen über Immunität und Krankheitsempfänglichkeit der Holzpflanzen. Naturw. Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft, 7. Jahrg., 1909.
8 Münch, E., Beobachtungen über Erhitzung der Bodenoberfläche im Jahre 1914. Naturw. Zeitschrift für Forst- und Landwirtschaft, 13. Jahrg., 1915.
9 Tubeuf, C. v., Studien über die Schüttekrankheit der Kiefer. Arbeiten aus der biol. Abt. f. Land- und Forstw. am Kais. Gesundheitsamt, II. Bd., 1. Heft, 1901.
10 Tubeuf, C. v., Über die Wirkungsweise der Bespritzung junger Kiefernpflanzen mit Cu-Mitteln. Forstwirtschaftliches Zentralblatt 1901.
11 Tubeuf, C. v., Kultur parasitischer Hysteriaceen. Naturw. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft, 1910.
12 Tubeuf, C. v., Schüttekrankheit der Kiefer. Naturw. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft, 11. Jahrgang, 8. Heft, 1913.